

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik der Universität
Erlangen – Nürnberg
Abteilung für Experimentelle Chirurgie und Hormonforschungslabor,
Professor Dr. Dr. P. O. Schwille

vorgelegt über das

Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungs-
physiologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität
München

Geschäftsführender Vorstand: Professor Dr. H. Zucker
Angefertigt unter der Leitung von Professor Dr. U. Lösch

WIRKUNGEN VON SOMATOSTATIN-14 UND SOMATOSTATIN-28 AUF DIE MAGENSEKRETION DER RATTE – HINWEISE FÜR UNTERSCHIEDLICHES PHARMAKOKINETISCHES VERHALTEN IN ABHÄNGIGKEIT VOM ORT DER APPLIKATION

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Gerhard Seefried
aus Oettingen/Bay.

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. U. Lösch

Korreferent: Prof. Dr. W. Rössner

Tag der Promotion: 26. Juli 1985

INHALTSVERZEICHNIS

	SEITE
1. EINFÜHRUNG	1
1.1 Somatostatin-14	
1.1.1 Entdeckung, Isolation und phylogenetische Rolle	1
1.1.2 Anatomische Lokalisation	1
1.1.3 Biosynthese, Transport und Freisetzung	2
1.1.4 Wirkungsmechanismus	2
1.1.5 Wirkungen von SS-14 auf die Hypophysenvorderlappenhormone	3
1.1.6 Wirkungen von SS-14 auf die Pankreashormone	4
1.1.7 Wirkungen von SS-14 auf den Gastrointestinaltrakt	5
1.2 Somatostatin-28	
1.2.1 Entdeckung und Isolation	5
1.2.2 Anatomische Lokalisation	6
1.2.3 Biosynthese und Freisetzung	6
1.2.4 Wirkungsmechanismus	7
1.2.5 Wirkungen von SS-28 auf Hypophysenvorderlappen, Pankreas und Gastrointestinaltrakt	7
1.3 Problemstellung	8
2. MATERIAL UND METHODEN	10
2.1 Versuchstiere	10
2.2 Chirurgische Präparationen	10
2.2.1 Operationsmaterial	10
2.2.2 Anlegen einer Magenfistel	10
2.2.3 Anlegen der venösen Zugänge	11
2.3 Infusionen	12
2.3.1 Versuche zur basalen Sekretion mit SS-14 und SS-28	13
2.3.2 Versuche zur stimulierten Sekretion mit SS-14 und SS-28	13
2.3.3 Versuche zur Pharmakokinetik von SS-14 und SS-28	14

2.4	Versuchsanordnung für Sekretion und Pharmakokinetik	14
2.4.1	Sekretionsversuche	14
2.4.2	Pharmakokinetikversuche	16
2.5	Sammlung von Magensaft	16
2.5.1	Aufbereitung von Magensaft	17
2.6	Blutentnahme aus der Aorta abdominalis und Vena cava caudalis	17
2.6.1	Gewinnung von Plasma bzw. Serum	17
2.7	Analysen und Berechnungen	18
2.7.1	Messungen im Plasma bzw. Serum	18
2.7.2	Messungen im Magensaft	20
2.7.3	Berechnung der Säuresekretion	20
2.7.4	Berechnung des Mukosablutflusses	21
2.7.5	Berechnung der Pepsinsekretion in sog. Units (U)	21
2.7.6	Berechnung der pharmakokinetischen Daten	21
2.8	Präsentation der Daten und Statistik	22
3.	ERGEBNISSE	23
3.1	Wirkungen von SS-14 bzw. SS-28 auf die basale Magensekretion	23
3.1.1	Sekretions-Volumen und pH	23
3.1.2	Säure	23
3.1.3	Pepsin	26
3.1.4	Mukosablutfluß	26
3.2	Wirkungen von SS-14 bzw. SS-28 auf die durch Pentagastrin stimulierte Magensekretion	28
3.2.1	Sekretions-Volumen und pH	28
3.2.2	Säure	28
3.2.3	Pepsin	30
3.2.4	Mukosablutfluß	30

Digitized by the Internet Archive
in 2026

	SEITE
3.3	Relative Wirkung der beiden Peptide 32
3.4	Typ der Interaktion von SS-14 und SS-28 mit der Magensekretion 34
3.5	Wirkung von SS-14 bzw. SS-28 auf die Immunoreaktivität von Somatostatin und Gastrin im Blut sowie die metabolische Clearance-Rate 36
3.5.1	Immunoreaktivität von Somatostatin und Gastrin während der basalen Sekretion 36
3.5.2	Immunoreaktivität von Somatostatin während der stimulierten Sekretion 38
3.5.3	Metabolische Clearance-Rate während intraperitonealer Infusion von SS-14 oder SS-28 38
3.6	Pharmakokinetisches Verhalten der beiden Peptide nach systemischer Infusion 41
3.6.1	Plasma-Halbwertszeit 41
3.6.2	Metabolische Clearance-Rate 41
3.6.3	Verteilungsraum der beiden Peptide 41
4.	DISKUSSION 44
4.1	Veränderungen bezüglich der Magensekretion 44
4.2	Hormonelle Veränderungen 47
4.3	Pharmakokinetisches Verhalten 47
5.	ZUSAMMENFASSUNG 50
	SUMMARY 52
6.	ANHANG 54
7.	LITERATUR 57

In der folgenden Arbeit enthaltene Abkürzungen:

SS-14	-	Somatostatin-14
SS-28	-	Somatostatin-28
GH-RIF	-	Growth Hormone Release Inhibiting Factor
SRIF	-	Somatotropin Release Inhibiting Factor
SS-IR	-	Somatostatin Immunoreactivity
SLI	-	Somatostatin-Like Immunoreactivity
MBF	-	Mucosal Blood Flow
HWZ	-	Halbwertszeit
MCR	-	Metabolische Clearance Rate
DV	-	Distribution Volume

1. EINFÜHRUNG

1.1 SS-14

1.1.1 Entdeckung, Isolation und phylogenetische Rolle

Im Rahmen von Untersuchungen zur Verteilung des Growth-Hormone-Releasing-Factor (GHRF) im Hypothalamus der Ratte gelang 1968 der Nachweis eines zweiten, antagonistisch wirksamen Faktors, der die Wachstumshormon-Freisetzung im Hypophysenvorderlappen hemmt (1). 1972 schließlich konnte dieser hemmende Faktor in seiner Struktur aufgeklärt werden (2). Da die Hauptwirkung des Peptids in einer Hemmung des Somatotropen Hormons (STH) zu liegen schien, wurde es Somatostatin (auch: GH-RIF = Growth Hormone Release Inhibiting Factor oder SRIF = Somatotropin Release Inhibiting Factor) genannt. Chemisch handelt es sich um ein Tetradeka-peptid, das in linearer und zyklischer Form vorkommt. Seit seiner Entdeckung konnte dieses Peptid von verschiedenen Arbeitsgruppen synthetisiert werden (3, 4, 5). Die Primärstruktur beider ist wie folgt:

Zyklisches Somatostatin -



Lineares Somatostatin -



Lineares und zyklisches Somatostatin (im folgenden als SS-14 abgekürzt) sollen in vivo und in vitro bei Mensch und Tier eine gleich starke biologische Aktivität besitzen (6, 7, 8). Ferner ist das Peptid bei fast allen Vertebraten, zum Teil auch bei primitiven Nicht-Vertebraten (9, 10) und sogar bei einem Protozoon (11) anzutreffen.

1.1.2 Anatomische Lokalisation

Das Vorkommen des Peptids im Organismus ist nicht auf den Hypothalamus allein beschränkt, sondern es läßt sich auch in anderen Hirnregionen, im peripheren Nervengewebe, im Pankreas, im Magen- und Darmtrakt und sogar in der Niere immunohistochemisch nach-

weisen. Im ZNS enthalten vor allem das limbische System (12), der Hirnstamm und das Rückenmark (13) Somatostatin-Zellen. Im peripheren Nervensystem findet man SRIF in vielen sensorischen Neuronen (14) und auch im sympathischen (15) und parasympathischen Nervensystem (16). Somatostatin ist aber auch in den D-Zellen der Langerhans'schen Inseln und in den Nervenzellendigungen des Pankreas vorhanden. In diesen Zellen kann das Peptid sogar mit Hilfe einer eigenen m-RNA für Somatostatin synthetisiert werden (17, 18, 19, 20). Die Somatostatin produzierenden Epithelzellen im Magen-Darm-Trakt, auch hier D-Zellen genannt, liegen in der Tiefe der Magen- und Darmschleimhautkrypten (21, 22). Von dort wird das Peptid in das Darmlumen sezerniert und kann mit den Rezeptoren der anderen Intestinalhormone (z.B. Sekretin, Cholezystokinin) in Beziehung treten (23).

1.1.3 Biosynthese, Transport und Freisetzung

Die zelluläre Biosynthese des Peptids startet mit der Bildung des Preprosomatostatin, das aus 116 Aminosäuren zusammengesetzt wird. Es wird im endoplasmatischen Retikulum der Neurone und der Epithelzellen synthetisiert und dann zum Golgi-Apparat weitergeleitet. Hier erfolgt eine proteolytische Spaltung zwischen den Aminosäuren Glycin und Alanin in Position 24 und 25, und es entsteht dabei das Prosomatostatin (92 Aminosäuren) (24, 25). Dieses wird dann innerhalb der Sekretgranula über Zwischenstufen (SS-28) oder direkt zu Somatostatin-14 umgeformt und durch eine noch nicht genauer untersuchte nervale Modifikation aus den D-Zellen geschleust (26). Im Nervengewebe dagegen werden diese Granula durch axoplasmatischen Transport zu den Nervenendigungen gebracht (27) und dort durch depolarisierende Reize, die chemischer oder elektrischer Natur sein können, freigesetzt (28).

1.1.4 Wirkungsmechanismus

Freigesetztes SRIF wird an spezifischen Rezeptoren der Hypophysenzellen (29, 30), der synaptischen Membranen des Gehirns (31) und der Inselzellen des Pankreas (32) gebunden, wobei wahrscheinlich zwischen Hypophysen- und Gehirnzellen Unterschiede in der Affinität zum Peptid bestehen (30). Die Wirkung wird über eine Senkung der 3', 5'-cAMP-Konzentration sowohl in den Hypo-

physenzellen als auch in den Pankreaszellen vermittelt (33, 34, 35). Weiterhin senkt GH-RIF die Ca-Permeabilität der Membranen und hemmt somit die Ca-abhängigen Reaktionen in der Zelle. Es wird sogar angenommen, daß die erste Reaktion des Hemmvorganges eine Blockierung des K-Ausstroms darstellt, welche wiederum den Anstieg der intrazellulären Ca-Konzentration verhindert. Dieser Wirkungstyp scheint vor allem bei der Hemmung von Insulin und Glucagon eine Bedeutung zu besitzen (33, 36, 37). Außerdem wird eine Regulation der SS-14-Freisetzung durch adrenerge Mechanismen vermutet, da bei Stimulation der β -Rezeptoren ein Anstieg, bei Stimulation der α -Rezeptoren ein Abfall der Plasma-SLI beobachtet wurde (38).

1.1.5 Wirkungen von SS-14 auf die Hypophysenvorderlappen-hormone

Die hemmende Wirkung des SS-14 auf das STH konnte an perifundierten Rattenhypophysen beobachtet werden (39). Zusätzlich konnte an diesen nachgewiesen werden, daß das vorher radioaktiv markierte und gespeicherte STH an seinem Austritt aus der Zelle gehindert wurde (40). Ferner wird nach Beendigung der Verabreichung von Somatostatin ein rasches Rebound-Phänomen mit deutlich höheren STH-Spiegeln als vor der Applikation beobachtet. Dieser Rebound-Effekt wird dahingehend interpretiert, daß - jedenfalls kurzfristig - Somatostatin nicht die Synthese und die Speicherung blockiert, sondern eher die Freisetzung aus den Zellen. Damit wird zum einen die schnelle Reaktion auf eine Somatostatin-Infusion und zum anderen die stetige und auch wieder schnell erfolgende Konzentrationserhöhung nach Beendigung der Infusion ermöglicht (41, 42). SRIF senkt wahrscheinlich nicht nur die Gesamtmenge des immunologisch bestimmbaren Wachstumshormon, sondern verändert auch das Verhältnis der einzelnen molekularen Komponenten. Am stärksten soll das monomere STH, weniger stark, aber mit zeitlich längerer Wirkung, die "big"-Formen und nur gering das STH mit einem Molekulargewicht über 100 000 supprimiert werden (43).

Somatostatin hemmt aber auch die Freisetzung von thyreotropem Hormon (TSH) aus isolierten Rattenhypophysen (44) und senkt die basalen Thyrotropin-Spiegel bei Ratten (45) und Menschen

(46). Im Tierversuch konnte gezeigt werden, daß durch passive Immunisierung mit einem Antiserum gegen Somatostatin die basale und die durch Thyrotropin Releasing Hormone (TRH) stimulierte TSH-Inkretion gesteigert werden kann (47). Andererseits werden die unter einer thyreostatischen Behandlung erhöhten TSH-Konzentrationen bei Hyperthyreose durch SRIF gesenkt (48). Ebenso wurde eine Suppression erhöhter TSH-Spiegel bei primärer Hypothyreose um 30 - 40 Prozent, sogar zum Teil um 65 Prozent beschrieben (49, 50).

Die Angaben über die Wirkung von GH-RIF auf die Sekretion von Prolaktin sind uneinheitlich. In Hypophysenzellkulturen läßt sich zwar eine Hemmung der Prolaktin-Freisetzung beobachten, die aber im Tierversuch nicht nachgewiesen werden konnte (44). Die LH- und FSH-Konzentrationen werden durch Somatostatin nicht beeinflusst (49). Ein Einfluß auf die ACTH-Inkretion konnte bei Gesunden nicht festgestellt werden (51). Nur bei Nelson-Syndrom und stark erhöhten ACTH-Konzentrationen zeigte sich ein deutlicher Abfall (52).

1.1.6 Wirkungen von SS-14 auf die Pankreashormone

SRIF hemmt weiterhin die Sekretion von Insulin, Glucagon und auch die eigene Sekretion. Andererseits wird Somatostatin durch Glucagon, Insulinmangel, durch einige Aminosäuren, durch orale Aufnahme von Fett, Protein, Glucose, durch Neurotransmitter (Acetylcholin und α_2 -Agonisten) und durch Darmpeptide (VIP und Cholezystokinin) stimuliert (53, 54). Diese gegenseitigen Wechselwirkungen werden dadurch erreicht, daß die D-Zellen, die das Somatostatin bilden, unmittelbar den Insulin- (B-Zellen) und Glucagon- (A-Zellen) produzierenden Zellen des Pankreas benachbart sind, und A-, B- und D-Zellen Somatostatin-Rezeptoren besitzen (55). Die Interaktionen zwischen Glucagon und SRIF sind typisch für einen negativen Feedback-Mechanismus: Glucagon stimuliert Somatostatin, und dieses wiederum hemmt Glucagon. Bei der Regulation der Insulinsekretion ist diese negative Feedback-Kontrolle weniger stark ausgeprägt, da die Sensibilität gegenüber Somatostatin bei den A-Zellen wesentlich größer ist als bei den B-Zellen (56).

1.1.7 Wirkungen von SS-14 auf den Gastrointestinaltrakt

Im Gastrointestinaltrakt ist der Haupteffekt von SRIF wahrscheinlich parakriner Natur, aber es wird auch eine endokrine Rolle (57) sowie eine Wirkung über die intraluminale Sekretion diskutiert (58). Die Abnahme der Gastrin-Sekretion wird sowohl unter basalen als auch unter stimulierten Bedingungen durch SS-14 bei Tier und Mensch bewirkt (59). Im Tierversuch konnte auch nachgewiesen werden, daß trotz Stimulation durch Pentagastrin, Histamin, Nahrung und Insulin die Sekretion der Magensäure während einer SS-Infusion gehemmt wurde (59, 60, 61). Das Ausmaß der Hemmung ist dabei von der Dosis abhängig (62, 63). Gleichzeitig wurde eine Reduktion der Magenschleimhautdurchblutung beobachtet (64). Nach einer Histamin-Stimulation der Magensäuresekretion konnte ein geringerer Hemmeffekt von SS ermittelt werden als nach Pentagastrin-Stimulierung. Für den Hemmechanismus wird hier neben der bereits erwähnten Verminderung der 3', 5'-cAMP-Konzentration ein direkter inhibitorischer Effekt an den Parietalzellen diskutiert (65, 66). Weiterhin wurde bei länger andauernder SS-Infusion festgestellt, daß nach 4 Stunden die Hemmung der Magensäuresekretion trotz laufender Infusion abnahm und nach 12 Stunden die Ausgangswerte unter Vehikel wieder erreicht worden waren (62). Eine supprimierende Wirkung von GH-RIF auf die Pepsin-Sekretion wurde ebenfalls nach Histamin- oder Pentagastrin-Stimulation beobachtet (59, 67). Als weitere Wirkungen des SRIF im Gastrointestinaltrakt wären noch zu erwähnen: Hemmung der exokrinen Sekretion von Dünndarm und Pankreas, Reduktion der Magen-, Gallenblasen- und Dünndarmmotilität, Reduktion der Absorption aller Nahrungsmittelklassen (einschließlich Wasser) und Hemmung der Zellproliferation in der Magenmucosa (68).

1.2 SS-28

1.2.1 Entdeckung und Isolation

SRIF gehört in eine Gruppe von verwandten Peptiden, zu der neben dem originalen SS-14 noch einige spezifische und größere Prohormonformen und das vor einigen Jahren entdeckte Octacosapeptid Somatostatin-28 (SS-28) zählt. Dieses wurde 1978 erst-

malig aus der Darmmucosa des Schweines isoliert und besitzt an seinem C-terminalen Ende SS-14 in peptidischer Bindung (69). 1980 stellte die gleiche Arbeitsgruppe bei der Analyse der Aminosäuresequenz fest, daß das Peptid aus 28 Aminosäuren zusammengesetzt ist und ein um 14 Aminosäuren N-terminal verlängertes SS-14 repräsentiert (70). Im gleichen Jahr wurde SS-28 außerdem noch im Hypothalamus des Schweines (71) und des Schafes (72, 73) gefunden, ein Jahr später auch im Hypothalamus der Ratte (74). Die Primärstruktur von Somatostatin-28 ist folgende:



Die oben dargestellte Struktur von SS-28 ist bei Mensch, Schwein, Schaf (75) und Ratte (76) identisch.

1.2.2 Anatomische Lokalisation

Die Verteilung im Organismus entspricht in etwa der von SS-14. Die höchsten Konzentrationen sind im Hypothalamus und Corpus amygdaloideum, geringere Mengen in den übrigen Hirnregionen und im Rückenmark zu finden. Im Gastrointestinaltrakt zeigen der Magen, das Pankreas und das Colon die höchste Immunoreaktivität (76, 77).

1.2.3 Biosynthese und Freisetzung

Die Biosynthese von SS-28 beginnt wie bei SS-14 mit der Bildung des Preprosomatostatin. Dieses wird dann durch enzymatische Spaltung zu Prosomatostatin und SS-28 abgebaut, und entweder als SS-28 aus den Synaptosomen freigesetzt oder zu SS-14 umgewandelt. Die Conversion soll mit Hilfe eines Trypsin-ähnlichen Enzyms, das in Position 13 (Lysin) und 14 (Arginin) SS-28 in SS-14 spaltet, erfolgen. Trotzdem können in den Synaptosomen verschiedener Gewebe, speziell im Hypothalamus, SS-28 und SS-14 in unterschiedlichen Konzentrationen nebeneinander vorliegen. Es wird deshalb vermutet, daß die Umwandlung, die in Abhängigkeit vom SS-28/SS-14-Verhältnis abläuft, einen wichtigen Regelmechanismus bei der Aktivität der Somatostatin-Zellen darstellt (78, 79, 80).

Die Freisetzung von SS-28 in den Hypophysen-Pfortaderkreislauf aus dem Hypothalamus soll durch einen Ca-abhängigen Mechanismus, der bis jetzt nur in vitro nachgewiesen wurde, stattfinden (81). Über die Freisetzung des Peptids in den Pfortaderkreislauf des Gastrointestinaltrakts liegen solche Erkenntnisse noch nicht vor.

1.2.4 Wirkungsmechanismus

Für die Wirkung von freigesetzten SS-28 im ZNS scheint die unterschiedliche Rezeptorenaffinität ein wichtiger Cofaktor zu sein. Diese ist nämlich dadurch gekennzeichnet, daß sie für die Hypophysenrezeptoren im Vergleich mit SS-14 6.5 mal höher, für die Rezeptoren der übrigen Hirnregionen jedoch niedriger ist (82). Daten über die Rezeptorenaffinität von Pankreas und Gastrointestinaltrakt gegenüber SS-28 sind derzeit noch nicht verfügbar. Der Wirkungsmechanismus selbst beruht wie bei SS-14 auf einer Senkung der 3', 5'-cAMP-Konzentration (83). Die Wirkungsdauer hingegen ist signifikant länger als bei SRIF (84), da Unterschiede in der Halbwertszeit der beiden Peptide bestehen (85, 86).

1.2.5 Wirkungen von SS-28 auf Hypophysenvorderlappen, Pankreas und Gastrointestinaltrakt

Im Hypophysenvorderlappen zeigt SS-28 eine gleiche oder stärkere Hemmwirkung als SS-14 auf die Freisetzung von Growth-Hormone und Prolaktin (87, 88). Die Wirkung auf die anderen Adenohypophysen-Hormone entspricht in etwa der von SS-14.

Die Pankreashormone Insulin und Glucagon werden ebenfalls gehemmt. Bemerkenswert ist dabei die eher selektive Wirkung von SS-28 auf die Insulin-Inkretion und die 10 mal so starke Hemmwirkung im Vergleich mit SRIF (84, 87, 89). Auch die Sekretion des exokrinen Pankreasanteils wird sowohl unter basalen als auch unter stimulierten Bedingungen negativ beeinflusst. Eine überlegene Hemmwirkung von SS-28 war lediglich bei der durch Sekretin oder Caerulein stimulierten Proteinsekretion des Pankreas nachweisbar, während die Bicarbonatsekretion nur geringfügig gehemmt wurde (85).

Im Gastrointestinaltrakt werden SS-28 wie SS-14 zum einem in das Darmlumen (87), zum anderen in den Pfortaderkreislauf sezerniert und übernehmen somit wahrscheinlich eine regulatorische Funktion (88, 89). Ferner wird auf Grund einiger Ergebnisse die Möglichkeit diskutiert, daß SS-28 nur die Wirkungen des SS-14 nachahmt, und damit keinen eigenen circulatorischen und metabolischen Effekt besitzt (90). Die Hemmung der exokrinen Sekretion des Magens durch SS-28 ist, verglichen mit der durch SS-14, je nach Versuchstier-Spezies unterschiedlich ausgeprägt. Beim Hund wurde unter SS-14- bzw. SS-28-Einfluß eine gleich starke Hemmung von Serum-Gastrin (91), Säure- und Pepsin-Sekretion (92) beobachtet, während bei der Katze die Hemmung der Säure- und Pepsin-Sekretion durch SS-14 der durch SS-28 überlegen war (93). Ähnliche Untersuchungen am Menschen und an der Ratte sind bis jetzt noch nicht bekannt geworden.

1.3 Problemstellung

In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb die Wirkungen von SS-14 und SS-28 auf die Magensekretion der Ratte untersucht, um hier im direkten Vergleich das Octacosapeptid SS-28 zu bewerten. Unter verschiedenen Versuchsanordnungen wurden folgende Variablen bestimmt:

1. Im Sekret: Volumen, Säure (Konzentration, Sekretion), Pepsin (Konzentration, Sekretion), pH und ^{14}C -Aminopyrin-Aktivität;
2. Im Serum: Gastrin-Konzentrationen und ^{14}C -Aminopyrin-Aktivität;
3. Im Plasma: SS-14- und SS-28-Konzentrationen.

Damit sollten folgende Fragen beantwortet werden:

1. Ist SS-28 dem Tetradecapeptid SS-14 im Hinblick auf die Hemmung der Sekretion des Magens unter basalen und stimulierten Bedingungen überlegen?
2. Wird außer Säure auch Pepsin gehemmt?

3. Wie verhält sich die ^{14}C -Aminopyrin-Clearance als Maß des Mukosablutflusses in Relation zur Säure während stimulierter Sekretion allein und während dieser plus zusätzlicher Hemmung der Säure durch SS-14 bzw. SS-28?
4. Welche Blutspiegel an SS-IR werden bei äquimolaren Peptid-dosen während intraperitonealer bzw. intravenöser Infusion erreicht?

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden an 176 männlichen Albino-Ratten des Stammes Sprague-Dawley (Mus-Rattus; Brunnthal b. München) durchgeführt. Zwischen der Ankunft der Tiere und dem Operationstermin lag eine Eingewöhnungsperiode von ca. einer Woche. Die Haltung erfolgte in Makrolon-Käfigen bei einer Temperatur von 22-24 °C, 65 % relativer Luftfeuchtigkeit und einem 12h/12h Tag-/Nacht-Zyklus. Gefüttert wurden die Tiere mit Ratten-Standard-Diät (No. 1324, Altromin; Lage) und Leitungswasser ad libitum. Das Gewicht der Tiere betrug am Operationstag 250-290 g, am Versuchstag 220-280 g.

2.2 Chirurgische Präparationen

2.2.1 Operationsmaterial

Die für die Implantation verwendeten Magenfisteln (V2A-Stahl; Thomas-Type; siehe Anhang Abb. 1) wurden von der Fa. Lettenbauer, Erlangen, gefertigt. Als Nahtmaterial wurde am Magen, an Bauchdecke und äußerer Haut Suppolene HR 22, 2 metric (Resorba; Nürnberg) verwendet.

Narkotikum für die Operation der Tiere war Pentobarbital-Natrium (Nembutal^R, Abbott; Ingelheim) in einer Dosierung von 0.1 ml/100g Körpergewicht (entsprechend 60 mg/kg KG), das intraperitoneal verabreicht wurde.

Für die Punktion der Vena jugularis externa wurde eine Injektionskanüle der Größe 24G x 19 mm, für die der Vena portae eine Kanüle der Größe 20G x 32 mm (beide Abbocath, Abbott, Sligo; Irland) benutzt. Als Dicht- und Fixationsmittel wurde Histoacryl^R blau (Braun; Melsungen) eingesetzt. Mit Hilfe eines elektrischen Thermometers (XRM 3, Siemens; Erlangen) wurde die Temperatur in der Bauchhöhle gemessen.

2.2.2 Anlegen einer Magenfistel

Nach Eintritt der Narkose erfolgte eine großflächige Rasur der Tiere im Bereich der Linea alba, das Auflegen auf einen Operationstisch (Braun; Melsungen) und die Hautdesinfektion mit Kodan.

Anschließend wurde in der Linea alba, beginnend am Xiphoid, ein ca. 2.5 cm langer Schnitt durch Haut, Muskulatur und Peritoneum angelegt, und der Magen aus dem Bauchraum vorgelagert. Oberhalb der großen Krümmung zwischen Fundus und Antrum wurde der Magen auf 0.5 cm Länge eröffnet und um die Öffnung ein Faden für eine Tabaksbeutelnaht gelegt. In diese Öffnung wurde die Fistelbasis (siehe Anhang Abb. 1, Nr. 1a) eingebracht, und dann die Tabaksbeutelnaht zugezogen. Auf den nach außen zeigenden Fistelschaft (Teil 1b) kam nun eine Teflonscheibe (Nr. 2), die sich nach Ableitung des Schaftes durch die Bauchdecke, zwischen Magen und Bauchdecke befand. Die Fixation des Fistelschaftes an der Haut erfolgte durch einen Fixierungsring (Nr. 4). Um eine daraus eventuell folgende Drucknekrose an der Hautoberfläche zu verhindern, wurde als Nekroseschutz die Metallbeilagscheibe (Nr. 3) zwischen Haut und Fixierungsring gelegt. Zum Schluß wurde die Verschlusskappe (Nr. 5) aufgeschraubt, um ein spontanes Abfließen des Magensaftes und eine Verlegung des Fistellumens zu verhindern. Das Peritoneum und die Bauchmuskulatur wurden mit einer fortlaufenden Naht, die äußere Haut mit einer Einzelnaht (U-Naht nach Wolff) verschlossen. Abschließend wurde die Naht mit Kunstharzpflaster (Johnson & Johnson; Norderstedt) abgedeckt. Zwischen Versuchsbeginn und Operationszeitpunkt waren jeweils 7 Tage Ruhepause für die Tiere.

2.2.3 Anlegen der venösen Zugänge

Die Punktion der Vena jugularis externa bzw. Vena portae und der Vena cava caudalis für die Versuche zur Pharmakokinetik erfolgte erst am Versuchstag. Nach Narkose, Rasur und Desinfektion in der seitlichen Halsregion wurde ein Schnitt von 2 cm Länge durch Haut und Unterhaut geführt, und die Vena jugularis externa aus dem umgebenden Bindegewebe mobilisiert. Anschließend wurde die Injektionskanüle im mittleren Halsabschnitt caudwärts in das Gefäß geschoben, und die Injektionsstelle mit Histoacryl^R blau (Braun; Melsungen) abgedichtet. Die Kanüle wurde mit 0.15 M Kochsalzlösung gefüllt, mit dem Infusionssystem verbunden und mit einer Knopfnahnt gesichert.

Um die Vena portae freizulegen, wurde nach Rasur und Desinfektion der Bauchdecke die Bauchhöhle in der Linea alba, beginnend am Processus xiphoideus, mit einem 4.5 cm langen Schnitt eröffnet, und das Ligamentum hepatoduodenale dargestellt. Im Bereich dieses Ligamentums wurde der Katheter cranialwärts in die Vena portae eingestochen, mit Histoacryl^R fixiert und abgedichtet. Die Kanüle wurde wiederum mit 0.15 M Kochsalzlösung gefüllt und mit dem Infusionsschlauch verbunden.

Zusätzlich wurde für die Blutentnahme ein weiterer Katheter (Abbo-cath 20G x 51 mm, Abbott, Sligo; Irland) direkt an der Teilungsstelle der Vena cava caudalis in die beiden Venae iliacae communes eingeführt, mit Gewebekleber (Histoacryl^R blau, Braun; Melsungen) gesichert und mit einem Schraubverschluß verschlossen. Der Verschluß der Bauchhöhle wurde provisorisch mit Michelschen Klammern durchgeführt, um einen Wärme- und Flüssigkeitsverlust zu vermeiden. Abschließend wurde der Konus des Cava-Katheters im caudalen, klammerfreien Öffnungsbereich auf die Bauchdecke aufgelagert. Die Magenfistel war bereits 7 Tage vorher implantiert worden.

2.3 Infusionen

Während der Sekretionsversuche wurde jeder Ratte eine Infusionslösung (1 ml/h/Tier) intraperitoneal verabreicht, die in der Versuchsgruppe aus einem konstanten (Vehikel) und einem variablen Anteil (Peptide) bestand, in der Kontrollgruppe nur aus einem konstanten Teil. Dieser konstante Teil oder Vehikel enthielt 0.15 M Kochsalzlösung, als sog. Peptidschutz bzw. Adhäsionsprophylaxe an den Kunststoffwänden 0.05 % Bovines Serum-Albumin (BSA, Behring; Marburg) und als Marker für den Mukosablutfluß ¹⁴C-Aminopyrin (0.15 µCi/kg/h, Buchler-Amersham; Braunschweig).

In den Versuchen zur Pharmakokinetik (siehe Absatz 2.4.2) erhielt jedes Tier eine Infusionslösung (1 ml/h/Ratte) in die Vena jugularis externa bzw. Vena portae. Auch hier wurden Kontrollgruppen und Versuchsgruppen gegenübergestellt. Die Infusionslösung der Kontrollen (Vehikel) beinhaltete ebenfalls 0.15 M Kochsalzlösung und 0.05 % Bovines Serum-Albumin (BSA, Behring; Marburg), die der Versuchsgruppen zusätzlich die verschiedenen Peptiddosen.

2.3.1 Versuche zur basalen Sekretion mit SS-14 und SS-28

Für die Sekretionsversuche unter basalen Bedingungen wurde ein 2-faktorieller Dosisanstieg gewählt, und die Dosen an SS-14 (Stilamin^R, Serono, Freiburg; BRD) und SS-28 (Bachem, Bubendorf; Schweiz) auf äquimolarer Basis berechnet:

Basalsekretion	0.8	1.5	3.1	6.15	12.3	nM/kg/h
SS-14	1.25	2.5	5.0	10.0	20.0	µg/kg/h
SS-28	2.59	5.18	10.36	20.72	41.44	µg/kg/h

Die oben aufgeführten Peptiddosen wurden in die Vehikellösung der entsprechenden Versuchsgruppen (n = 6 Tiere pro Peptiddosis) eingebracht. Zwei weitere Gruppen (je eine pro Peptid) erhielten nur Vehikel.

2.3.2 Versuche zur stimulierten Sekretion mit SS-14 und SS-28

Als Stimulus für die Sekretion wurde nach Vorversuchen Penta-gastrin (Gastrodiagnost^R, Merck; Darmstadt) in einer Dosierung von 8 µg/kg/h gewählt. Diese Dosis wurde sowohl in die Infusions-lösung der Kontrollgruppen als auch in die der Versuchsgruppen eingebracht. Der Anstieg der Dosen von SS-14 und SS-28 wurde jetzt auf Faktor 4 festgelegt. Die Berechnung erfolgte wiederum auf äquimolarer Basis:

Stimulierte Sekretion	-----Pentagastrin 8 µg/kg/h-----				
	1.5	6.15	24.6	98.4	nM/kg/h
SS-14	2.5	10.0	40.0	160.0	µg/kg/h
SS-28	5.18	20.74	82.96	331.84	µg/kg/h

Die einzelnen Peptiddosen wurden wieder in die Vehikellösung der jeweiligen Versuchsgruppen (n = 8 Tiere pro Peptiddosis) gegeben. Den Kontrollgruppen (je eine pro Peptid) wurden nur Vehikel und Pentagastrin zugeführt.

2.3.3 Versuche zur Pharmakokinetik von SS-14 und SS-28

Auch bei diesem Versuch wurden die eingesetzten Mengen an SS-14 (siehe 2.3.1) und SS-28 (siehe 2.3.1) entsprechend ausgewogen:

Infusion in V.jugularis externa bzw. V.portae	3.1	nM/kg/h
SS-14	5.0	$\mu\text{g/kg/h}$
SS-28	10.36	$\mu\text{g/kg/h}$

Diese Dosis wurde den einzelnen Versuchsgruppen (n = 5 pro Peptid) in die Vena jugularis externa bzw. Vena portae infundiert. Vier Gruppen (je eine pro Peptid und Vene) erhielten lediglich Vehikel.

2.4 Versuchsanordnung für Sekretion und Pharmakokinetik

2.4.1 Sekretionsversuche

Bei den Sekretionsversuchen war die Anordnung für das Studium der basalen und stimulierten Sekretion gleich.

24 h vor Versuchsbeginn wurden die Tiere in ihren Makrolon-Käfigen nüchtern gesetzt (Gitterboden, kein Futter, Wasser ad libitum). Damit sollte ein Verstopfen des Fistellumens durch Mageninhalt vermieden werden.

Die Sekretionsdauer war 4 h (12^{00} - 16^{00}). Während dieser Periode (kein Futter, kein Wasser) erhielten die Tiere eine intraperitoneale Infusion (siehe 2.3). Der Versuch selbst wurde unter sogenannten Null-Streß-Bedingungen in einem besonders abgeschirmten Labor durchgeführt. Mit dieser Anordnung sollte eine möglichst geringe Belastung durch veränderte Umweltbedingungen im Vergleich zur gewohnten Haltung erzielt werden. Trotzdem mußte eine Abnahme von Magensaft und eine Dauerinfusion möglich sein.

Zu Versuchsbeginn erhielten die Tiere in kurzer Äthernarkose eine doppelte intraperitoneale Infusionsleitung (No. 12, Bard; Sunderland, GB), die durch die seitliche Bauchwand führte und auf dem Rücken der Tiere mit Hilfe eines Metallsattels befestigt wurde.

Dieser hinderte die Tiere am Abnagen des Schlauches. Um ein Herausgleiten des Infusionssystems aus dem Bauchraum zu verhindern, wurde um den Infusionsschlauch eine Leukoplastschleife geklebt und diese mit einer Knopfnahut am Fell fixiert.

Eine doppelte Infusionsleitung wurde angelegt, um am Versuchsende bei laufender Infusion das Narkotikum (Nembutal^R, Abbott; Ingelheim) ohne Beeinträchtigung der Tiere in die Bauchhöhle zu bringen.

Der Sattel besteht aus einer Metall-Rückenplatte mit einem nach vorne offenen, größenverstellbaren Halsring, der mit einer PVC-Schutzschicht überzogen ist. Nach oben sind zwei 4 cm lange gebogene Metallröhren angelötet, in denen sich zwei stumpfe V2A-Stahl-Kanülen (1406/8 Acufirm) mit Konus befinden. Auf diese Kanülen wurden die Infusionsschläuche aufgezogen. Der Sattel und die an der seitlichen Körperwand verlaufenden Infusionsleitungen wurden zusätzlich mit Leukoplast befestigt.

Abschließend erhielt jedes Tier noch während der Äthernarkose eine Bolusinjektion in die Penisvene, welche im folgenden aufgelistet wird:

Bolus in den Kontrollgruppen:

basal	¹⁴ C-Aminopyrin:	0.4 µCi/kg in 0.2 ml NaCl
stimuliert	¹⁴ C-Aminopyrin:	0.4 µCi/kg in 0.2 ml NaCl
	Pentagastrin:	25.0 µg/kg in 0.2 ml NaCl

Bolus in den Versuchsgruppen:

basal	¹⁴ C-Aminopyrin:	0.4 µCi/kg in 0.2 ml NaCl
	SS-14 bzw. SS-28:	12.3 nM/kg in 0.2 ml NaCl
stimuliert	¹⁴ C-Aminopyrin:	0.4 µCi/kg in 0.2 ml NaCl
	Pentagastrin:	25.0 µg/kg in 0.2 ml NaCl
	SS-14 bzw. SS-28:	12.3 nM/kg in 0.2 ml NaCl

Jede Ratte wurde daraufhin einzeln in einen Stoffwechselkäfig (Süsse & Schmidt; Kassel) eingesetzt. An die geöffnete Magen-fistel wurde ein 15 cm langer PVC-Schlauch angeschlossen, der in ein graduiertes Zentrifugenröhrchen (26 ml Fassungsvermögen) mündete. Dieses stand unter dem Laufgitter des Käfigs frei beweglich in einem Becherglas, so daß es sich den Bewegungen der

Tiere anpassen konnte. Die Verbindung zwischen dem Konus der intra-peritonealen Leitung und den 50 ml Glasspritzen der Infusionspumpe UNITA (Braun; Melsungen) wurde durch einen Original-Perfusor-Schlauch ($\emptyset$ 1, 7 mm, Braun; Melsungen) hergestellt.

2.4.2 Pharmakokinetikversuche

Die Tiere wurden ebenfalls 24 h vor Versuchsbeginn nüchtern gesetzt (siehe 2.4.1). Der Versuch selbst dauerte 1 h. Während dieser Zeit waren die Tiere mit Pentobarbital-Na narkotisiert. Für eine konstante Körpertemperatur sorgte ein auf 37 °C vorgewärmtes Heizkissen (Rowenta; Offenbach), auf das die Tiere während des Versuches gelegt wurden.

Das Anlegen der venösen Zugänge wurde, wie in 2.2.3 beschrieben, am Versuchstag durchgeführt. Ferner wurde zur Kontrolle der Körpertemperatur ein Thermofühler im Bereich des nach außen verlegten Cava-Katheters in die Bauchhöhle eingelegt. Anschließend wurde die Magenfistel geöffnet, angespült und Sekret über einen PVC-Schlauch abgeleitet, aber das Sekret nicht gesammelt. Das für die einzelnen Katheter verwendete Infusionssystem bestand aus einer Original-Leitung Perfusor-Pumpe ($\emptyset$ 1, 7 mm, Braun; Melsungen), 50 ml Glasspritze (Braun; Melsungen) und einer UNITA Infusionspumpe (Braun; Melsungen). Die Infusionsdauer betrug 30 min (Einzelheiten siehe 2.3.3 und 2.6).

Unmittelbar vor dem Start der Peptid-Infusionen wurde den Tieren ein Bolus in die Penisvene gegeben:

Kontrollgruppen:	0.2 ml NaCl
Versuchsgruppen:	SS-14 bzw. SS-28: 1.5 nM/kg in 0.2 ml NaCl

2.5 Sammlung von Magensaft

Trotz 24-stündiger Nüchternphase waren bei einigen Tieren noch Futterreste im Magen vorhanden. Deshalb wurde als vorbeugende Maßnahme bei allen nach Öffnung der Fistel eine Spülung des Magens mit warmer physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt. Der Anschluß der Auffanggefäße bzw. das Aufstecken der Schläuche wurde erst nach vollständigem Abtropfen der Spüllösung vorgenommen. Das Abfließen des Magensekrets erfolgte ausschließlich entlang dem

Schweregradienten, wozu die Röhrchen 10 - 15 cm unterhalb der Tiere standen.

Nach Versuchsbeendigung wurden die Sekret Röhrchen verschlossen und bei 4 °C bis zur Weiterverarbeitung gelagert.

2.5.1 Aufbereitung von Magensaft

Nach Ablesen des Volumens (Genauigkeit $\pm$ 0.1 ml) wurde der Magensaft bei 4 °C mit 7000 g etwa 5 - 7 Minuten zentrifugiert. Anschließend erfolgte die Lagerung des Überstandes bei 4 °C bis zur weiteren Untersuchung bzw. es wurden zwei Eppendorf-Röhrchen der Sekretprobe eines jeden Tieres tiefgefroren.

2.6 Blutentnahme aus der Aorta abdominalis und Vena cava caudalis

Die Blutentnahme wurde bei den Sekretionsversuchen am Ende des Versuches in Nembutal^R-Narkose (Abbott; Ingelheim) durchgeführt. Als Entnahmeort wurde die Aorta abdominalis gewählt. Hier wurde das Blut direkt an der Teilungsstelle in die beiden Arteriae iliacae communes mittels eines Teflonkatheters (Abbocath 20 G x 51 mm, Abbott, Sligo; Irland) entnommen.

Bei den Pharmakokinetikversuchen erfolgte die Blutentnahme aus der Vena cava caudalis. Es wurde jeweils vor dem Infusionsstart und vor Beendigung der 30 minütigen Infusionsperiode eine Blutentnahme durchgeführt. Nach Stop der Infusion wurden in einem Zeitraum von 5 Minuten drei weitere Blutproben (31, 32, 35 min) genommen.

2.6.1 Gewinnung von Plasma bzw. Serum

7.2 ml Vollblut je Tier wurden bei den Sekretionsversuchen aus der Aorta abdominalis entnommen. Für Plasma wurden davon 2 x 1.35 ml in eisgekühlten Eppendorf-Röhrchen mit je 0.15 ml EDTA/Trasylo⁺ versetzt. Die restlichen 4.5 ml Blut erhielten keinen

⁺EDTA = Titriplex III, Merck, Darmstadt;
Konzentration: 1.2 mg/ml Blut

Trasylo⁺ = Aprotinin, Bayer, Leverkusen;
Konzentration: 500 U/ml Blut

Zusatz (Serum) und wurden wie die Plasmaproben auf Eis gekühlt. Die aus der Vena cava caudalis entnommene Menge bei den Pharmakokinetikversuchen betrug jeweils 0.54 ml Vollblut, das in Eppendorf-Röhrchen mit 0.06 ml EDTA/Trasylol versetzt und auf Eis gekühlt wurde (Plasma).

2.7 Analysen und Berechnungen

2.7.1 Messungen im Plasma bzw. Serum

Der Radioimmunassay für die SRIF-Bestimmung wurde nach dem von Engelhardt und Schwille beschriebenen (1980) und später modifizierten (94) Verfahren durchgeführt. Als Antikörper wurde ein Kaninchenantiserum (K 17, Ferring; Kiel) in einer Endverdünnung von 1 : 490 000 verwendet, als Standardmaterial synthetisches zyklisches SRIF (Calbiochem, La Jolla; USA) und als Tracer Tyr¹-SRIF (Bachem, Bubendorf; Schweiz). Die Nachweisgrenze des Assays liegt bei 4 pg/ml, die innerhalb- bzw. zwischen-assay Variationskoeffizienten betragen 11 bzw. 15 % für eine mittlere Plasmakonzentration von 250 pg/ml. Die Wiederfindungsrate von Standardmaterial (500 pg/ml), das zu Plasma gegeben wird, beträgt im Mittel ca. 95 %. Serienverdünnungen von Rattenplasma verlaufen parallel zur Standardkurve (Abb. 1).

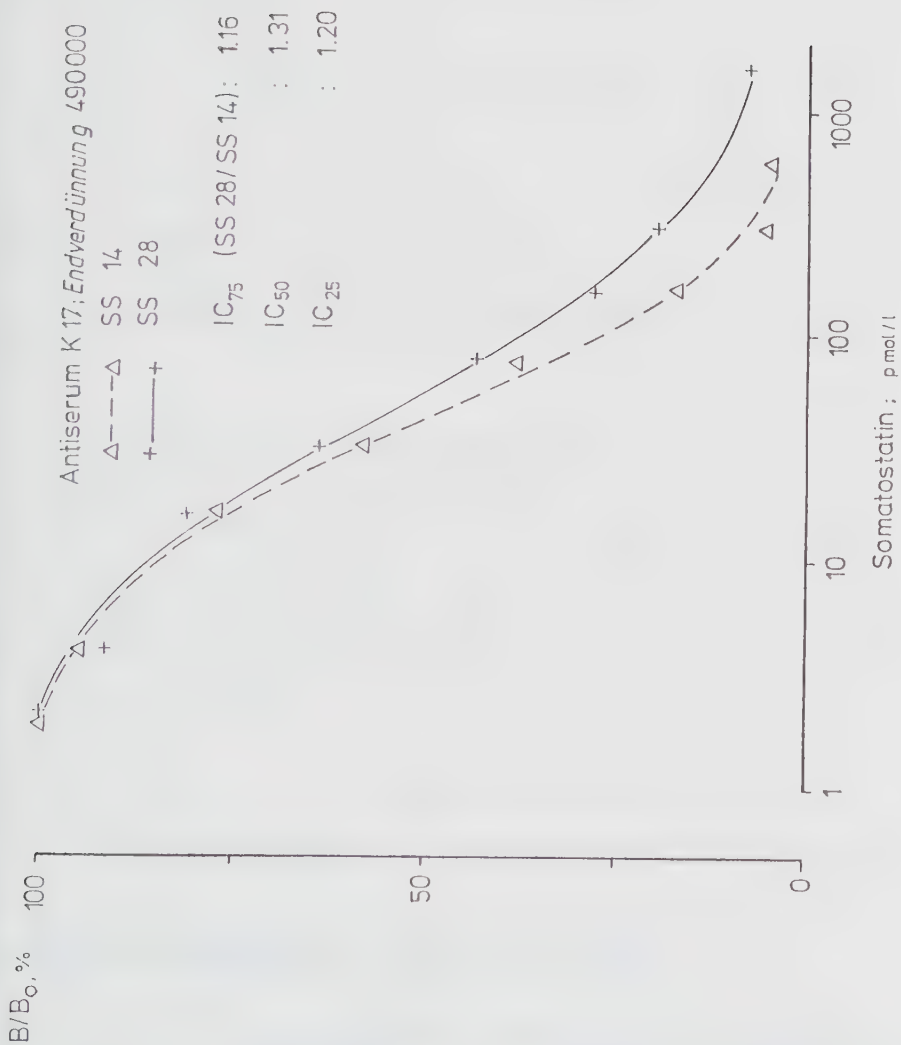


Abb. 1

Der sensitive Gastrin-Radioimmunassay (Nachweisgrenze ca. 3 pg/ml) wurde in Analogie zu einer weit verbreiteten Methode (95) entwickelt. Dabei wird ein Kaninchenantiserum (Endverdünnung 1.5×10^6) verwendet, welches gegen an bovines Serumalbumin gekoppeltes synthetisches Gastrin 17 (ICI; Plankstadt) gewonnen worden war. Dasselbe Peptid diente als Standard-Referenzmaterial und als Tracer (hergestellt nach dem Chloramin-T-Verfahren). Der Tracerabbau während der Inkubation ist kleiner als 3 %, die innerhalb- bzw. zwischen-assay Variationskoeffizienten betragen 8 bzw. 9 %. Alle bekannten Gastrinspezies werden nachgewiesen. Der molare Quotient für 50 % Tracerverdrängung vom Antikörper durch synthetisches Gastrin-17 bzw. natürliches Gastrin-34 ist 1:1,25. Verdünnungen von hypergastrinämischen Rattenseren (gewonnen durch trunkuläre Vagotomie) verlaufen standardparallel.

2.7.2 Messungen im Magensaft

Der pH-Wert wurde mittels Glaselektrode (Methrom, Herisau; Schweiz) bestimmt. Die Magensäure wurde durch automatische Titration (Combi-Titrator, Methrom, Herisau; Schweiz) mit 0.1 n NaOH bis pH 7 ermittelt.

Die Messung der ^{14}C -Aminopyrin-Radioaktivität erfolgte durch Flüssigkeits-Szintillationsspektrophotometrie im nativen Magensaft und in Serumextrakten. Diese Extrakte wurden mittels der von Tague & Jacobson angegebenen Methode (96) gewonnen. Pepsin wurde enzymatisch bestimmt. Dabei diente bovines Hämoglobin als Substrat (97).

2.7.3 Berechnung der Säuresekretion

Aus dem NaOH-Verbrauch für 1 ml Sekret wurde nach der Formel:

$$\frac{\text{mmol}}{\text{kg} \times \text{h}} = \frac{\text{NaOH-Verbrauch (mmol)} \times \text{Magensaft volumen (ml)}}{\text{Körpergewicht (kg)} \times \text{Zeit (h)}}$$

die Säuresekretion einer Ratte pro kg Körpergewicht und pro h errechnet.

2.7.4 Berechnung des Mukosablutflusses

Die Einzelwerte der Radioaktivität in den Proben (cpm/ml Serum bzw. cpm/ml Magensaft) wurden in folgende Clearance-Formel eingesetzt:

$$\text{MBF (ml/kg/min)} = \frac{\text{Radioaktivität im Magensaft} \times \text{Volumen Magensaft (ml)}}{\text{Radioaktivität im Serum} \times \text{Zeit (min)} \times \text{Körpergewicht (kg)}}$$

2.7.5 Berechnung der Pepsinsekretion in sog. Units (U)

Sie erfolgte nach der Formel:

$$\frac{\text{U}}{\text{kg} \times \text{h}} = \frac{\text{Pepsin im Magensaft (U/ml)} \times \text{Magensaftvolumen (ml/h)}}{\text{Körpergewicht (kg)}}$$

2.7.6 Berechnung der pharmakokinetischen Daten

Die im pharmakokinetischen Versuchsteil gewonnen Ergebnisse zur SS-IR im Plasma waren Grundlage für die Ermittlung der Halbwertszeit (HWZ), der metabolischen Clearance-Rate (MCR) und des Verteilungsraumes (DV). Diese Berechnungen folgten den für Vasoaktives Intestinales Polypeptid gemachten Vorschlägen (98), welches einen ähnlich fragwürdigen Hormonstatus hat, wie die hier untersuchten Peptide SS-14 bzw. SS-28.

Bestimmung der HWZ

Die HWZ wurde aus den Plasmawerten, die als Exponentialfunktionen (pg/ml gegen Zeit t min) aufgetragen worden waren, für die einzelnen SS-Dosen graphisch ermittelt.

Berechnung der MCR

In Kenntnis der infundierten SS-Dosis und der daraus resultierenden SS-IR im Plasma wurde folgende Formel verwendet:

$$\text{MCR (ml/min/kg)} = \frac{\text{infundierte Dosis (pM/kg/min)}}{\text{Plasma SS-IR (pM/L)} - \text{Basalwert von SS-IR (pM/L)}}$$

Berechnung des DV der Peptide

Folgende Formel wurde verwendet:

$$DV \text{ (ml/kg)} = \frac{MCR \text{ (ml/min/kg)} \times HWZ \text{ (min)}}{\ln 2}$$

Alle Kinetikdaten wurden außerdem unter Bezug auf das Individuum Ratte (Körpergewicht ≤ 1 kg) interpretiert.

2.8 Präsentation der Daten und Statistik

Alle Ergebnisse sind Mittelwerte $\pm$ SEM. Da Nicht-Gauß-Verteilungen vorherrschen, wurde zur Prüfung auf Gesamtvarianz und auf Signifikanz der Unterschiede ($p < 0.05$) zwischen den Gruppen der nicht-parametrische Kruskal-Wallis-Test bzw. der zweiseitige U-Test durchgeführt (99).

3. ERGEBNISSE

3.1. Wirkungen von SS-14 bzw. SS-28 auf die basale Magensekretion

Unter dem Einfluß von Vehikel allein werden bei Volumen, pH, Säure, Pepsin und Mukosablutfluß (MBF) Werte beobachtet (Tab. 1), wie sie auch von anderen Untersuchern bei wachen und relativ ungestressten Ratten unter basalen Bedingungen beschrieben wurden (100, 101, 102).

3.1.1 Sekretions-Volumen und pH

Die Hemmwirkung auf das Sekretions-Volumen ist bei SS-14 ausgeprägter als bei SS-28. SS-14 zeigt vor allem in den beiden höchsten Dosen (6.15 und 12.3 nM/kg/h) eine signifikante Volumenabnahme ($p < 0.001$), verglichen mit den Vehikel-Werten. Bei SS-28 dagegen fehlt diese (Tab. 1). Ein deutlicher Unterschied in der Volumenverminderung beim Vergleich äquimolarer Peptiddosen gegeneinander ist jedoch nicht nachweisbar.

Ferner ist nach Verabreichung von SS-14 und SS-28 ein unterschiedlicher pH-Anstieg meßbar. Dabei weist vor allem SS-28 bei 6.15 und 12.3 nM/kg/h sowohl in direkter Gegenüberstellung mit SS-14 als auch gegenüber dem Vehikel einen deutlich höheren pH-Anstieg auf (Tab. 1).

3.1.2 Säure

Beide Peptide hemmen dosisabhängig Säure-Konzentration und Säure-Sekretion. Eine signifikante Reduktion der Säure-Konzentration ($p < 0.001$) gegenüber den Vehikel-Werten erfolgt bei SS-14 und SS-28 bereits in einer Dosis von 1.5 nM/kg/h (Tab. 1). Eine Differenz der Wirkung zwischen den beiden Peptiden ist nicht erkennbar.

Die Säure-Sekretion wird durch SS-14 bzw. SS-28 ebenfalls stark gehemmt. Eine submaximale Hemmung bis auf ca. 10 - 12 % der Ausgangswerte (Vehikel) wird mit 12.3 nM/kg/h erzielt, wobei die mittleren halb-maximalen Hemmdosen bei ca. 1.7 (SS-14) bzw. 2.0 (SS-28) nM/kg/h liegen (Abb. 2A, 4, 6A). Für SS-14 stimmt dieser

Tabelle 1 : Magensekretion und Mukosablutfluss (MBF) unter basalen Bedingungen. Einfluß von Vehikel (0,15 M Natriumchlorid, 0,05% BSA) bzw. SS-14 oder SS-28. Mittelwerte $\pm$ SEM. (): Anzahl Beobachtungen.

Vehikel	Vehikel + SS-14 bzw. SS-28						
		0,8 mM/kg/h	1,5 mM/kg/h	3,1 mM/kg/h	6,15 mM/kg/h	12,3 mM/kg/h	
Volumen; ml/kg/h	SS-14	5,3 ± 0,5 (8)	5,2 ± 1 (6)	4,4 ± 1 (6)	5,0 ± 0,5 (6)	3,2 ± 0,3 (6)***	3,3 ± 0,2 (6)***
	SS-28	5,9 ± 0,8 (8)	6,2 ± 0,3 (6)	5,2 ± 0,7 (6)	5,2 ± 0,8 (6)	4,3 ± 0,7 (6)	4,1 ± 0,4 (6)
pH	SS-14	1,6 ± 0,1 (8)	1,9 ± 0,1 (6)	2,1 ± 0,3 (6)*	2,8 ± 0,5 (6)**	4,1 ± 0,6 (6)***	4,4 ± 0,6 (6)***
	SS-28	1,7 ± 0,02 (8)	1,8 ± 0,1 (6)	2,0 ± 0,2 (6)	2,9 ± 0,3 (6)***	5,7 ± 0,7 (6)***	5,3 ± 0,7 (6)***
Säure-Konz.; mM/l	SS-14	89 ± 6 (8)	70 ± 11 (6)	53 ± 8 (6)***	33 ± 4 (6)***	23 ± 5 (6)***	21 ± 4 (6)***
	SS-28	87 ± 5 (8)	64 ± 6 (6)*	53 ± 6 (6)**	36 ± 3 (6)**	20 ± 9 (6)***	15 ± 4 (6)***
Säure-Sekretion; mM/kg/h	SS-14	0,53* ± 0,07 (8)	0,37* ± 0,08 (6)	0,26* ± 0,07 (6)*	0,16* ± 0,03 (6)	0,08* ± 0,02 (6)***	0,07* ± 0,01 (6)***
	SS-28	0,54* ± 0,10 (8)	0,40* ± 0,04 (6)	0,29* ± 0,06 (6)	0,18* ± 0,02 (6)	0,11* ± 0,05 (6)**	0,07* ± 0,02 (6)***
Pepsin-Konz.; kU/l	SS-14	126 ± 59 (8)	789 ± 312 (6)	469 ± 289 (6)	552 ± 154 (6)*	1144 ± 205 (6)***	1157 ± 239 (6)***
	SS-28	128 ± 55 (8)	384 ± 168 (6)	232 ± 173 (5)	555 ± 112 (6)**	571 ± 192 (6)	588 ± 154 (6)*
Pepsin-Sekret.; kU/kg/h	SS-14	0,87* ± 0,45 (8)	3,43* ± 1,36 (6)	1,40* ± 0,66 (6)	2,58* ± 0,81 (6)*	3,67* ± 0,79 (6)**	3,78* ± 0,71 (6)**
	SS-28	0,85* ± 0,43 (8)	2,36* ± 0,99 (6)	0,80* ± 0,42 (5)	2,64* ± 0,35 (6)*	2,41* ± 0,84 (6)	2,65* ± 0,81 (6)
Mukosablutfluß; ml/kg/min	SS-14	6,59* ± 0,90 (8)	5,09* ± 1,78 (6)	4,77* ± 0,69 (5)			
	SS-28	6,22* ± 0,67 (8)	5,64* ± 2,05 (6)	3,54* ± 0,42 (6)*			

*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ vs Vehikel ;

Wert mit einer vergleichbaren früheren Studie relativ gut überein ($2.7 \mu\text{g/kg/h} \approx 1.7 \text{ nM/kg/h}$, 100), während für SS-28 solche Daten bei der Ratte noch nicht verfügbar sind. Ein Wirkungsunterschied zwischen beiden Peptiden auf äquimolarer Basis ist wiederum nicht erkennbar.

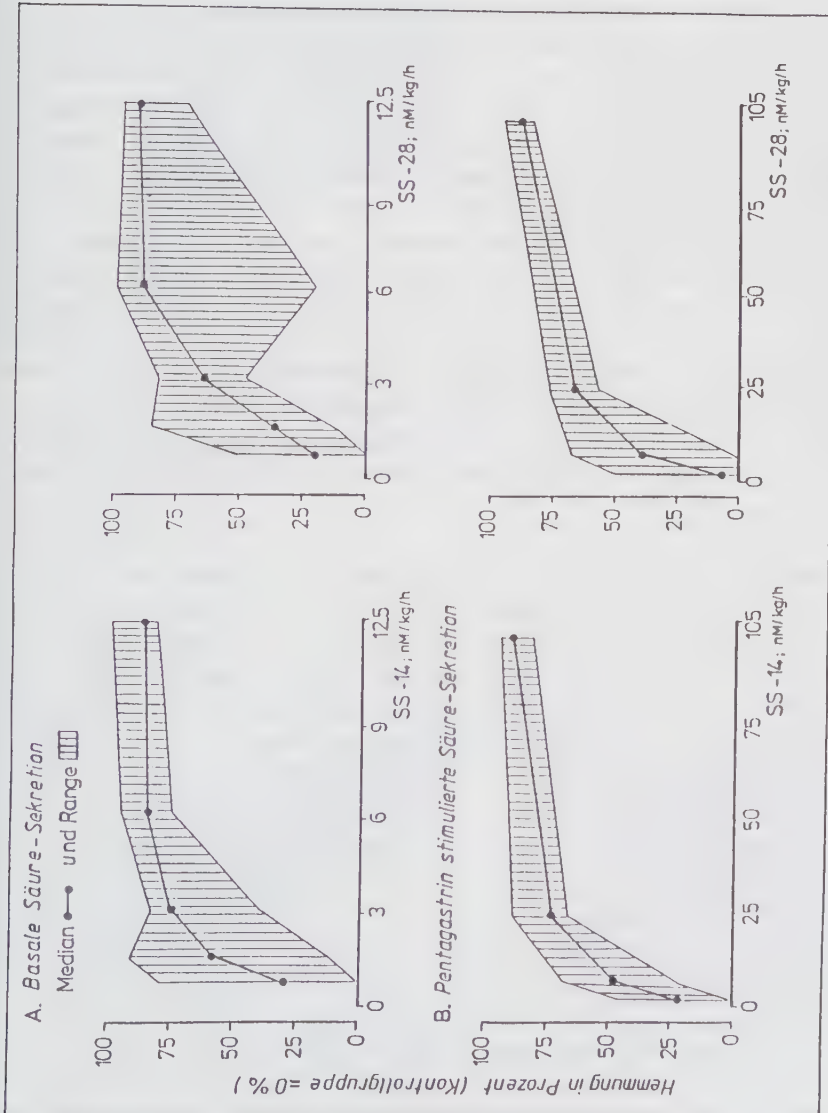


Abb. 2

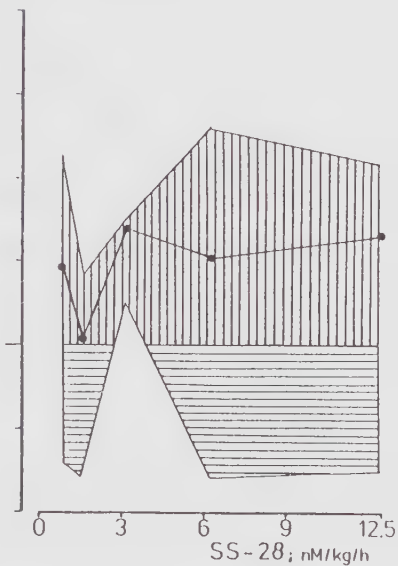
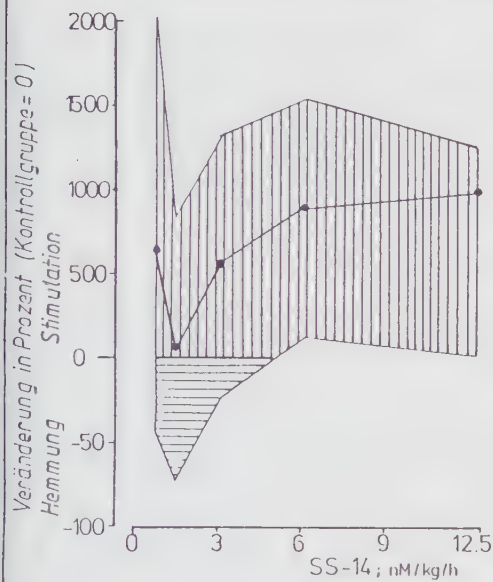
3.1.3 Pepsin

Die Pepsin-Konzentration und die Pepsin-Sekretion werden durch SS-14 und SS-28 überraschenderweise nicht erniedrigt, sondern stimuliert. Dabei zeigt sich unter dem Einfluß von SS-14 in fast allen Dosen (Ausnahme 3.1 nM/kg/h) ein nahezu doppelt so hoher Anstieg der Pepsin-Konzentration wie unter SS-28. Die Pepsin-Sekretion dagegen wird unter SS-14 grob um den Faktor 1.5 stärker erhöht als unter SS-28. Eine Ausnahme stellt die Dosis 3.1 nM/kg/h dar, womit Pepsin-Konzentration und -Sekretion durch die beiden Peptide grob gleich stimuliert werden. Lediglich bei 1.5 nM/kg/h scheinen beide Peptide ein Minimum ihrer pepsin-stimulierenden Wirkung zu besitzen. Bemerkenswert ist außerdem die große Streuung der Einzelwerte um den Mittelwert (Tab. 1, Abb. 3A, 4). Um Zweifel an der Validität der Meßwerte dahingehend zu beseitigen, ob die verwendete Analysenmethode (bovines Hämoglobin als Substrat) auch bei pH-Werten zwischen 4 - 6 die peptische Aktivität in den Proben registriert, wurden wiederholte Messungen der fraglichen Proben nach entsprechender vorheriger Ansäuerung durchgeführt. Dabei wurde festgestellt, daß sich die auf pH 1.5 angesäuerten Sekretproben in ihrer peptischen Aktivität nur geringgradig von den bei pH 4 - 6 gemessenen Aktivitäten unterschieden.

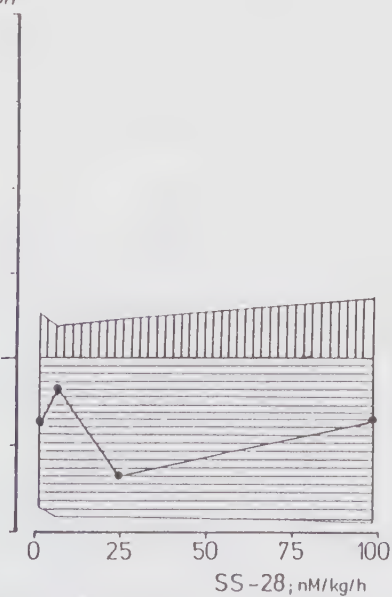
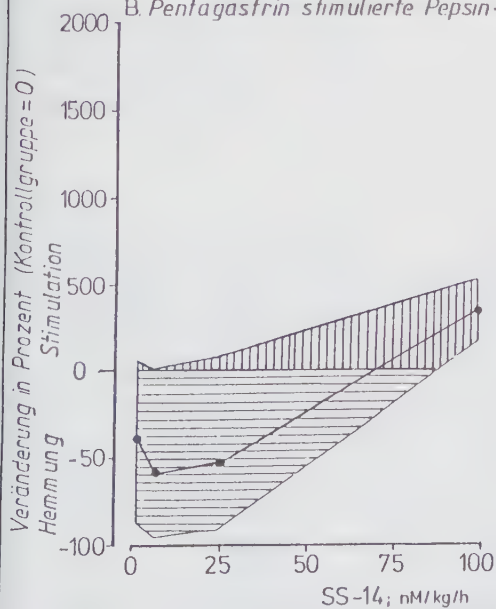
3.1.4 Mukosablutfluß

Eine Reduktion des Mukosablutflusses (MBF) kann durch SS-14 und SS-28 bewirkt werden. Ein signifikanter Unterschied gegenüber der Vehikelwirkung ($p < 0.05$) konnte lediglich für SS-28 in einer Dosierung von 1.5 nM/kg/h gezeigt werden (Tab. 1). Die Bestimmung des MBF wurde während Ruhe- und stimulierter Sekretion nur bis zu einem Sekret-pH von ≤ 3.0 vorgenommen.

A. Basale Pepsin-Sekretion; Median ●—● Range ||||| ; |||||



B. Pentagastrin stimulierte Pepsin-Sekretion



3.2 Wirkungen von SS-14 bzw. SS-28 auf die durch Penta- gastrin stimulierte Magensekretion

Das Volumen des Magensekrets wird durch Pentagastrin um ca. Faktor 2, der pH-Wert um ca. Faktor 1.5, Säure und MBF um ca. Faktor 3 (Vehikel, Tab. 2) gegenüber den Basalwerten gesteigert. Pepsin hingegen wird durch Pentagastrin, verglichen mit Werten unter Ruhesekretion (Tab. 1), nur sehr schwach stimuliert (Tab. 2), was andere Untersucher bestätigen (62).

3.2.1 Sekretions-Volumen und pH

Beide Peptide bewirken eine Abnahme des stimulierten Magensaft-volumens. Dabei ist der Ausprägungsgrad der Volumenabnahme dosis-abhängig. Es werden im Vergleich zur basalen Sekretion höhere Dosen SS-14 und SS-28 benötigt, um einen signifikanten Unterschied gegenüber Vehikel-Werten zu erreichen (Tab. 2). Die Wirksamkeit der beiden Peptide in den verschiedenen Dosen ist auf äquimolarer Basis ungefähr gleich groß.

Ein signifikanter pH-Anstieg wird unter SS-14 und unter SS-28 während stimulierter Sekretion erst bei einer Dosis von 24.6 nM/kg/h erzielt (Tab. 2). Es sei hier daran erinnert, daß unter basalen Bedingungen der gleiche pH-Wert von 1.8 bereits bei 0.8 nM/kg/h gemessen wurde (Tab. 1). In der höchsten Dosis (98.4 nM/kg/h) schließlich zeigt sich unter SS-14 ein deutlicherer pH-Anstieg als unter SS-28 (Tab. 2).

3.2.2 Säure

Die Säure-Konzentration und -Sekretion werden durch die beiden Peptide eindrucksvoll und grob gleich stark gehemmt, aber es werden wesentlich höhere Konzentrationen an SS-14 und SS-28 benötigt als während Basalsekretion. Unter 98.4 nM/kg/h wird eine sub-maximale Säure-Hemmung bis auf ca. 10 - 12 % der Ausgangswerte unter Vehikel erreicht. Dabei liegen die mittleren halb-maximalen Hemmdosen bei ca. 9.0 (SS-14) bzw. 10.5 (SS-28) nM/kg/h (Abb. 2 B, 4, 6B). Ähnliche Daten für SS-14 beschreiben auch andere Untersucher (62). Für SS-28 stehen entsprechende Werte bei der Ratte bis zu dieser Niederschrift noch nicht zur Verfügung.

Tabelle 2 : Magensekretion, Mukosablutfluß (MBF) und SS-IR in der Aorta abdominalis (Plasma) unter Pentagastrin stimulierten Bedingungen. Einfluß von Vehikel (0.15 M Natriumchlorid, 0.05% BSA) bzw. SS-14 oder SS-28. Mittelwerte $\pm$ SEM. (): Anzahl Beobachtungen.

Vehikel		Vehikel + SS-14 bzw. SS-28					
		1.5 mM/kg/h		6.15 mM/kg/h		24.6 mM/kg/h	
Volumen;							
ml/kg/h		SS-14	SS-28	SS-14	SS-28	SS-14	SS-28
12.8 $\pm$ 0.6 (8)	12.3 $\pm$ 0.9 (8)	12.3 $\pm$ 0.9 (8)	13.2 $\pm$ 1.2 (8)	9.4 $\pm$ 0.7 (8)**	6.3 $\pm$ 0.5 (8)***	4.2 $\pm$ 0.3 (8)***	5.0 $\pm$ 0.5 (8)***
14.0 $\pm$ 0.7 (8)	13.2 $\pm$ 1.2 (8)	13.2 $\pm$ 1.2 (8)	13.2 $\pm$ 1.2 (8)	10.0 $\pm$ 0.9 (8)**	7.0 $\pm$ 0.5 (8)***	5.0 $\pm$ 0.5 (8)***	5.0 $\pm$ 0.5 (8)***
pH							
SS-14	1.1 $\pm$ 0.03 (8)	1.1 $\pm$ 0.04 (8)	1.1 $\pm$ 0.04 (8)	1.3 $\pm$ 0.1 (8)**	1.8 $\pm$ 0.3 (8)***	3.6 $\pm$ 0.4 (8)***	3.6 $\pm$ 0.4 (8)***
SS-28	1.1 $\pm$ 0.02 (8)	1.3 $\pm$ 0.1 (8)	1.3 $\pm$ 0.1 (8)	1.3 $\pm$ 0.2 (8)	1.8 $\pm$ 0.2 (8)***	2.4 $\pm$ 0.4 (8)***	2.4 $\pm$ 0.4 (8)***
Säure-Konz.;							
mM/l							
SS-14	117 $\pm$ 4 (8)	105 $\pm$ 4 (8)	105 $\pm$ 4 (8)	91 $\pm$ 5 (8)**	60 $\pm$ 5 (8)***	40 $\pm$ 5 (8)***	40 $\pm$ 5 (8)***
SS-28	119 $\pm$ 3 (8)	107 $\pm$ 5 (8)	107 $\pm$ 5 (8)	93 $\pm$ 6 (8)**	75 $\pm$ 5 (8)***	39 $\pm$ 1 (8)***	39 $\pm$ 1 (8)***
Säure-Sekretion;							
mM/kg/h							
SS-14	1.50 $\pm$ 0.08 (8)	1.30 $\pm$ 0.13 (8)	1.30 $\pm$ 0.13 (8)	0.86 $\pm$ 0.09 (8)**	0.38 $\pm$ 0.05 (8)***	0.17 $\pm$ 0.03 (8)***	0.17 $\pm$ 0.03 (8)***
SS-28	1.66 $\pm$ 0.11 (8)	1.43 $\pm$ 0.16 (8)	1.43 $\pm$ 0.16 (8)	0.95 $\pm$ 0.14 (8)**	0.52 $\pm$ 0.03 (8)***	0.19 $\pm$ 0.02 (8)***	0.19 $\pm$ 0.02 (8)***
Pepsin-Konz.;							
kd/l							
SS-14	95 $\pm$ 15 (8)	57 $\pm$ 15 (8)	57 $\pm$ 15 (8)	48 $\pm$ 11 (7)*	119 $\pm$ 35 (8)	1124 $\pm$ 127 (7)***	1124 $\pm$ 127 (7)***
SS-28	85 $\pm$ 19 (8)	87 $\pm$ 34 (7)	87 $\pm$ 34 (7)	113 $\pm$ 41 (7)	116 $\pm$ 53 (8)	418 $\pm$ 183 (7)	418 $\pm$ 183 (7)
Pepsin-Sekretion;							
kd/kg/h							
SS-14	1.16 $\pm$ 0.16 (8)	0.73 $\pm$ 0.21 (7)	0.73 $\pm$ 0.21 (7)	0.48 $\pm$ 0.13 (7)*	0.77 $\pm$ 0.23 (8)	4.5 $\pm$ 0.41 (7)***	4.5 $\pm$ 0.41 (7)***
SS-28	1.10 $\pm$ 0.26 (8)	1.13 $\pm$ 0.49 (7)	1.13 $\pm$ 0.49 (7)	1.10 $\pm$ 0.44 (7)	0.82 $\pm$ 0.39 (8)	1.66 $\pm$ 0.67 (7)	1.66 $\pm$ 0.67 (7)
Mukosablutfluß;							
ml/kg/min							
SS-14	21.9 $\pm$ 1.88 (8)	11.07 $\pm$ 0.96 (8)***	11.07 $\pm$ 0.96 (8)***	8.56 $\pm$ 0.95 (8)***	8.56 $\pm$ 0.95 (8)***	2207 $\pm$ 371 (8)***	2207 $\pm$ 371 (8)***
SS-28	20.31 $\pm$ 2.35 (8)	18.37 $\pm$ 2.77 (8)	18.37 $\pm$ 2.77 (8)	10.82 $\pm$ 1.09 (8)**	993 $\pm$ 79 (8)***	3685 $\pm$ 390 (8)***	3685 $\pm$ 390 (8)***
SS-IR;							
pg/ml							
SS-14	101 $\pm$ 19 (8)	106 $\pm$ 19 (8)	106 $\pm$ 19 (8)	219 $\pm$ 27 (8)**	345 $\pm$ 87 (8)***	2207 $\pm$ 371 (8)***	2207 $\pm$ 371 (8)***
SS-28	86 $\pm$ 10 (8)	125 $\pm$ 16 (8)	125 $\pm$ 16 (8)	222 $\pm$ 28 (8)**	993 $\pm$ 79 (8)***	3685 $\pm$ 390 (8)***	3685 $\pm$ 390 (8)***

* : p < 0.05 ; ** : p < 0.01 ; *** : p < 0.001 vs Vehikel ;

3.2.3 Pepsin

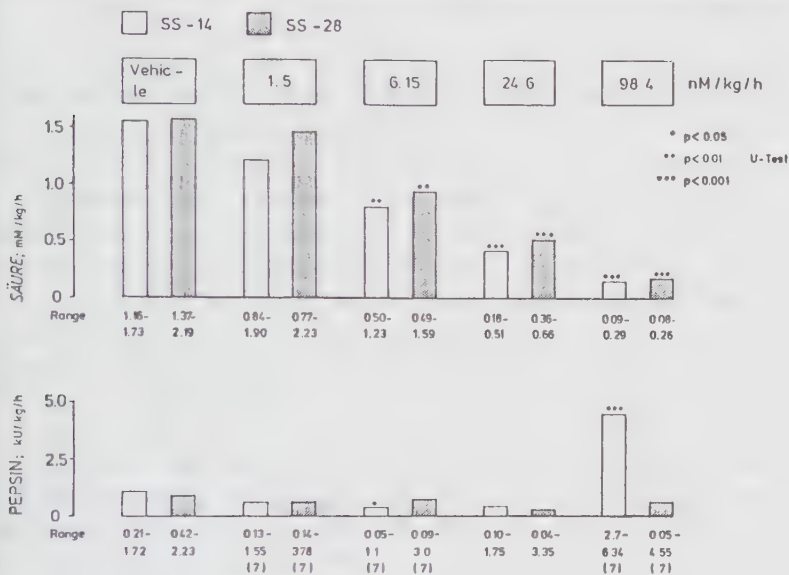
Im Gegensatz zur Pepsinsteigerung durch SS-14 bzw. SS-28 unter basalen Sekretionsbedingungen ist SS-28 während stimulierter Sekretion gegenüber Pepsin in den von uns gewählten niedrigen und mittleren Dosen unwirksam. Erst in sehr hohen Konzentrationen (98.4 nM/kg/h) führt das Peptid zu einem geringen Anstieg der Pepsin-Konzentration und -Sekretion. Durch SS-14 dagegen wird Pepsin in mittleren Dosen supprimiert und in hohen stimuliert (Tab. 2, Abb. 3 B, 4).

Die Validität der Meßwerte wurde auch hier nach der in 3.1.3 beschriebenen Methode geprüft.

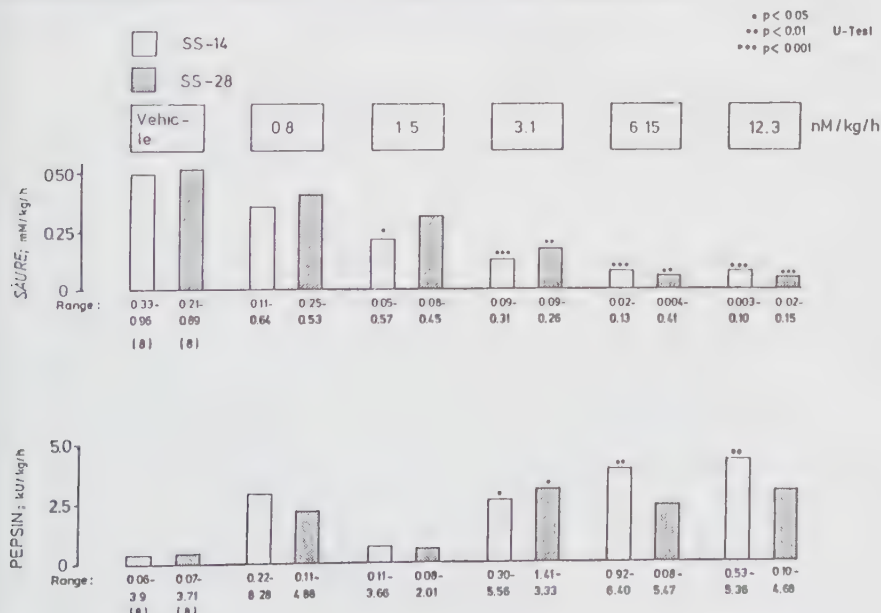
3.2.4 Mukosablutfluß

Eine Verminderung des stimulierten MBF vermitteln beide Peptide. SS-14 reduziert dabei bis auf ca. 39 %, SS-28 nur bis auf ca. 48 % der Ausgangswerte unter Vehikel. Auch ein Vergleich der MBF-Werte bei äquimolaren Konzentrationen beider Peptide läßt hier eine überlegene Wirkung von SS-14 erkennen (Tab. 2).

Pentagastrin stimulierte Saure- und Pepsin-Sekretion, Median und Range. N=8 Ratten/Gruppe, ausgenommen ().



Basale Saure- und Pepsin-Sekretion, Median und Range. N=6 Ratten/Gruppe, ausgenommen ().



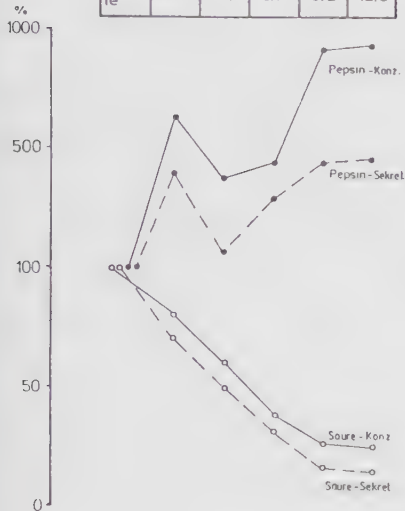
3.3 Relative Wirkung der beiden Peptide

Die im vorhergehenden Text beschriebenen und in den Tabellen 1, 2 enthaltenen numerischen Veränderungen bezüglich Säure und Pepsin unter basalen und stimulierten Sekretionsbedingungen wurden graphisch als relative Veränderungen (Mittelwert der jeweiligen Vehikel-Gruppe = 100 Prozent) in Abbildung 5 demonstriert. Demnach erscheint während der Basalsekretion die Hemmwirkung beider Peptide gegenüber Säure gleich stark ausgeprägt, während die pepsin-stimulierende Komponente offenbar einem biphasischen Verlauf folgt. SS-14 zeigt nämlich unter der niedrigsten (0.8 nM/kg/h) und den beiden höchsten Dosen (6.2 und 12.3 nM/kg/h) eine starke, in den mittleren Dosen (1.5 und 3.1 nM/kg/h) eine mäßige Pepsin-Stimulierung. SS-28 verhält sich während Ruhesekretion ähnlich, weist jedoch zusätzlich bei 3.1 nM/kg/h eine starke Pepsin-Steigerung auf. Während stimulierter Sekretion ist die Hemmwirkung von SS-14 bzw. SS-28 auf Säure wiederum gleich stark, eine pepsinstimulierende Komponente dagegen ist nur unter den beiden höchsten (SS-14) bzw. der höchsten Dosis (SS-28) erkennbar. Auf der Basis dieser Daten scheint deshalb die Pepsin-Steigerung unter SS-28 geringer ausgeprägt zu sein als unter SS-14.

MITTLERE BASALE MAGENSEKRETION mit steigenden Pepliddosen (nM/kg/h), Vehikeleffekt = 100%,

SS-14

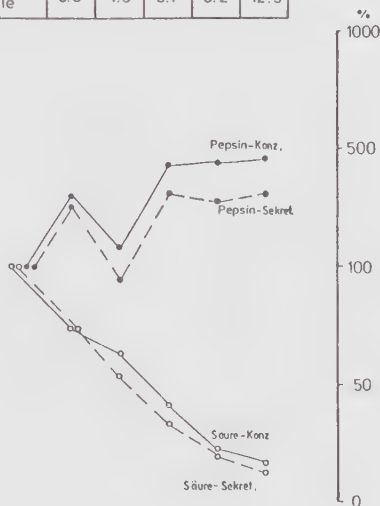
Vehi- le	0.8	1.5	3.1	6.2	12.3
-------------	-----	-----	-----	-----	------



SS-28

n = 6 Ratten/Dosis

Vehi- le	0.8	1.5	3.1	6.2	12.3
-------------	-----	-----	-----	-----	------

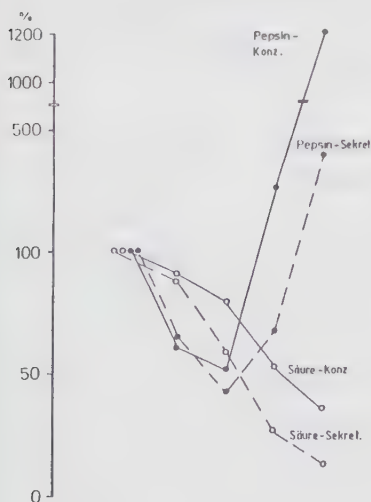


MITTLERE PENTAGASTRIN STIMULIERTE MAGENSEKRETION mit steigenden Pepliddosen (nM/kg/h); Vehikeleffekt = 100%;

n = 8 Ratten/Dosis

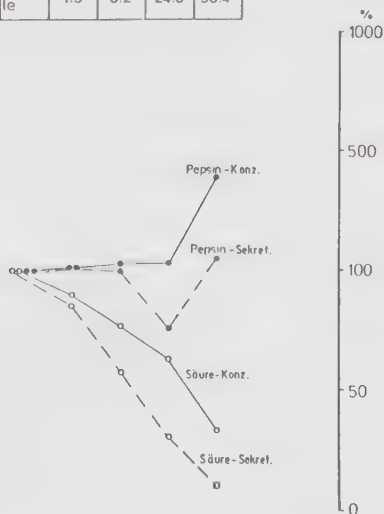
SS-14

Vehi- le	15	6.2	24.6	98.4
-------------	----	-----	------	------



SS-28

Vehi- le	15	6.2	24.6	98.4
-------------	----	-----	------	------



3.4 Typ der Interaktion von SS-14 und SS-28 mit der Magen- sekretion

Die Daten zur Dosis-Wirkung der Peptide (Abb. 6) zeigen, daß die Interaktion von Pentagastrin und Somatostatin an den Rezeptoren der Parietalzellen einer kompetitiven Hemmung entspricht, d.h. die Dosis-Wirkungskurve ist im Vergleich zu jener während Basalsekretion nach rechts verschoben. Es werden somit, um den gleichen Hemmeffekt bei der stimulierten Säuresekretion zu erzielen, ungefähr 5 mal so hohe molare Konzentrationen an SS-14 und SS-28 benötigt wie unter basalen Sekretionsbedingungen. Weiterhin ist bemerkenswert, daß die Steigungen der Regressionsgeraden von SS-14 bzw. SS-28 bei einem direkten Vergleich während Ruhe- und während stimulierter Sekretion keine signifikanten Unterschiede aufweisen (siehe Legende zu Abb. 6).

Der Mechanismus, welcher der Interaktion von Somatostatin und Pepsin zugrunde liegt, ist dagegen unklar. Er kann mit den hier verwendeten Untersuchungsmethoden und den damit gewonnenen Werten nicht beschrieben werden.

Zu Abb. 6: Regressionsgerade zur Wirkung von SS-14 bzw. SS-28 während basaler und stimulierter Säuresekretion.

Abszisse: Dosis - $\log$ (nM/kg/h) SS-14 bzw. SS-28

Ordinate: Hemmung in Prozent

Regressionsgleichung: SS-14 basal: $y = - 48.78 x + 480$

SS-28 basal: $y = - 52.53 x + 507.8$

SS-14 stim.: $y = - 40.11 x + 374.8$

SS-28 stim.: $y = - 43.01 x + 391.8$

T-Test: SS-14 gegen SS-28 basal: $T = 0.101 = n. s.$

SS-14 gegen SS-28 stim.: $T = 0 = n. s.$

n. s. = nicht signifikant

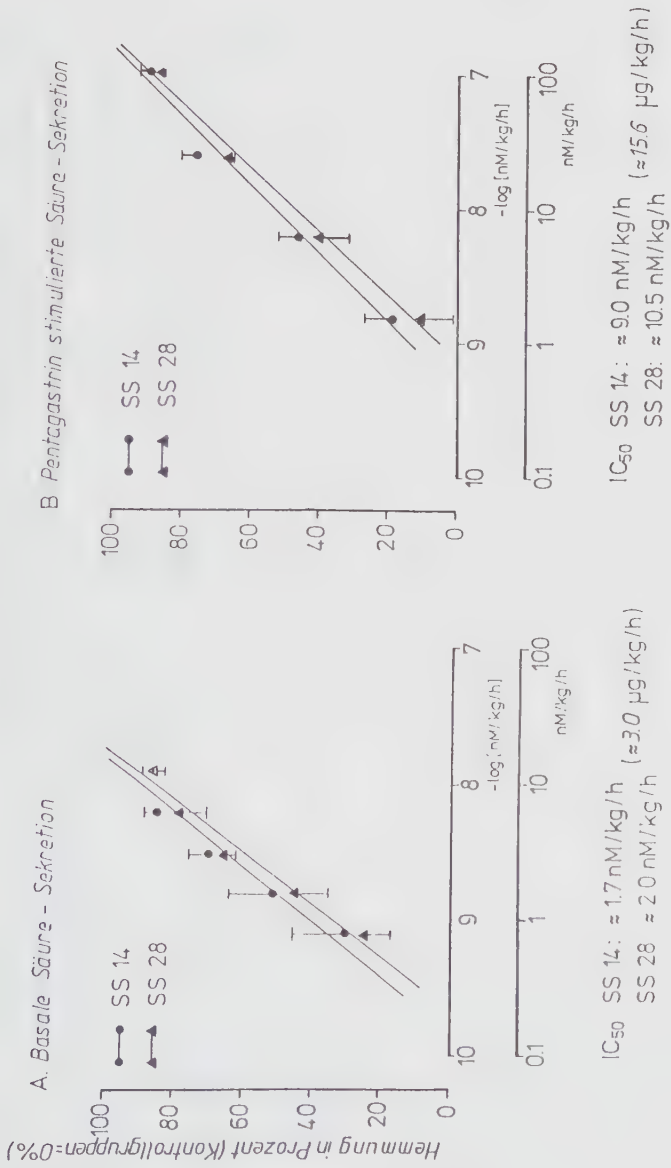


Abb. 6

3.5. Wirkung von SS-14 bzw. SS-28 auf die Immunoreaktivität von Somatostatin und Gastrin im Blut sowie die metabolische Clearance-Rate

3.5.1 Immunoreaktivität von Somatostatin und Gastrin während der basalen Sekretion

Die mittlere Somatostatin-Immunoreaktivität (SS-IR) unter basalen Bedingungen nach intraperitonealer Infusion ist in Tabelle 3 und Abbildung 7 dargestellt. Die Werte bewegen sich in einer Größenordnung die auch von anderen beschrieben wurde (103).

Die Plasmaspiegel zeigen dabei eine direkte Abhängigkeit zu den Dosen von SS-14 bzw. SS-28 (Tab. 3). Die SS-IR von SS-28 ist außerdem bei fast jeder Dosis doppelt so hoch wie die von SS-14, was auf die äquimolare Berechnungsbasis zurückzuführen ist. Bei Berücksichtigung dieser Tatsache (SS-14: Molekulargewicht ≈ 1600 , SS-28: Molekulargewicht ≈ 3200) ergeben sich für SS-14 und SS-28 unter basalen Bedingungen nahezu identische Plasma-Werte (Abb. 7).

Die Daten von Gastrin sind ebenfalls in Tabelle 3 enthalten. Es wird ersichtlich, daß die Blut-Spiegel von Gastrin unter SS-14-Einfluß im gesamten Dosisbereich innerhalb der Standardabweichung des Vehikelmittelwertes (112 ± 39 pg/ml) liegen und somit weder eine Suppression noch eine Stimulation durch SS-14 erkennen lassen. Unter SS-28 Zufuhr hingegen scheint allerdings eine Supprimierung des Plasma-Gastrins, die sich bei der höchsten Dosis (12.3 nM/kg/h) signifikant vom Vehikel unterscheidet, möglich zu sein (Tab. 3).

Tabelle 3 : Hormone im Blut der Aorta abdominalis unter basalen Bedingungen. Einfluß von Vehikel (0.15 M Natriumchlorid, 0.05% BSA) bzw. SS-14 oder SS-28. Gastrin: Serum. Somatostatin-Immunoreaktivität (SS-IR) : Plasma. Einzelheiten siehe Tabelle 1 bzw. Absatz Material und Methoden. Mittelwerte $\pm$ SEM. () : Anzahl Beobachtungen.

Vehikel		Vehikel + SS-14 bzw. SS28					
		0.8 nM/kg/h	1.5 nM/kg/h	3.1 nM/kg/h	6.15 nM/kg/h	12.3 nM/kg/h	
SS - IR: pg/ml	SS-14	56 $\pm$ 7 (8)	108 $\pm$ 15 (6)	248 $\pm$ 39 (6)	396 $\pm$ 24 (6)	1162 $\pm$ 755 (6)	...
	SS-28	47 $\pm$ 3 (8)	212 $\pm$ 30 (6)	494 $\pm$ 110 (6)	1003 $\pm$ 179 (6)	2511 $\pm$ 411 (6)	...
Gastrin: pg/ml	SS-14	112 $\pm$ 39 (8)	104 $\pm$ 30 (6)	132 $\pm$ 25 (6)	134 $\pm$ 28 (6)	124 $\pm$ 28 (6)	...
	SS-28	116 $\pm$ 29 (8)	91 $\pm$ 11 (6)	84 $\pm$ 20 (6)	83 $\pm$ 13 (6)	60 $\pm$ 16 (6)	...

... : p < 0.05 ; ** : p < 0.01 ; *** : p < 0.001 vs Vehikel

3.5.2 Immunoreaktivität von Somatostatin während der stimulierten Sekretion

Die unter stimulierten Bedingungen gemessene Plasma SS-IR ist in Tabelle 2 und Abbildung 7 zusammengefaßt.

Die Vehikel-Werte sind hier deutlich höher als unter Ruhesekretion, was auf einen stimulierenden Effekt von Pentagastrin zurückzuführen ist, und von anderen Untersuchern beschrieben wurde (62, 66). Die Plasma SS-IR zeigt in Relation zu den deutlich höheren äquimolaren Dosen an SS-14 und SS-28 einen unerwartet geringen Anstieg im Vergleich mit der basalen IR, d.h. bei 24.6 nM/kg/h und stimulierten Bedingungen ist die IR der beiden Peptide im Plasma um ca. 1/3 niedriger als bei 12.3 nM/kg/h und basalen Bedingungen (Tab. 2, 3, Abb. 7). Auch bei einem Vergleich der Plasmawerte der beiden Peptide finden sich nach Berücksichtigung der unterschiedlichen Molekulargewichte nur in den beiden höchsten Dosen annähernd gleich hohe Konzentrationen, in den niederen Dosen dagegen ist die SS-IR unter SS-28-Einfluß nur halb so hoch wie die unter SS-14 (Tab. 2).

Eine Bestimmung von Gastrin während der durch Pentagastrin stimulierten Sekretion wurde wegen der zu erwartenden Kreuzreaktion von Pentagastrin mit dem Antikörper gegen Gastrin bzw. wegen der resultierenden unmeßbar hohen Gastrinspiegel nicht durchgeführt.

3.5.3 Metabolische Clearance-Rate während intraperitonealer Infusion von SS-14 oder SS-28

Während Ruhesekretion liegt die MCR für SS-14 zwischen 25 (0.8 nM/kg/h) und 103 ml/min/Ratte (6.2 nM/kg/h), für SS-28 zwischen 47 (0.8 nM/kg/h) und 79 ml/min/Ratte (6.2 nM/kg/h). Bei 12.3 nM/kg/h jedoch fällt die MCR von SS-14 um ca. 31 % ab, jene von SS-28 um ca. 20 Prozent, verglichen mit der Dosis 6.2 nM/kg/h (Abb. 7).

Unter stimulierten Sekretionsbedingungen wird eine MCR ermittelt, welche für SS-14 im Bereich von 21 (1.5 nM/kg/h) bis 486 ml/min/Ratte (24.6 nM/kg/h), bei SS-28 im Bereich von 142 (1.5 nM/kg/h) bis 339 ml/min/Ratte (24.6 nM/kg/h) zu finden ist. In der höchsten Dosis (98.4 nM/kg/h) tritt bei Vergleich mit der zweithöchsten Dosis wiederum ein Abfall der MCR auf, und zwar bei SS-14 um

PLASMA SS-Immunoreaktivität (SS-IR) und mittlere sichtbare METABOLISCHE CLEARANCE RATE (MCR) während intraperitonealer SS-Infusion; $\bar{x} \pm \text{SEM}$

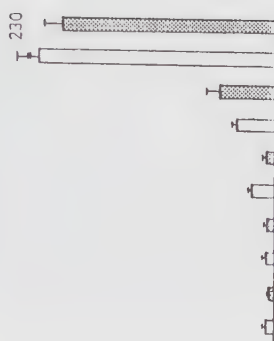
Basale Sekretion

Vehic- le	0.8	1.5	2.1	6.2	12.3
					nM/kg/h



Pentagastrin stimulierte Sekretion

Vehic- le	1.5	6.2	24.6	98.4
				nM/kg/h



SS-14 SS-28

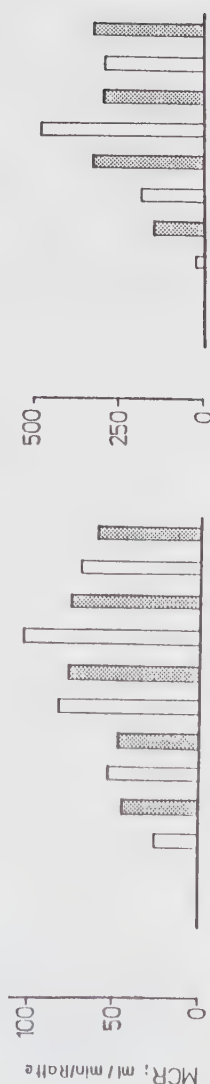


Abb. 7

32 Prozent, bei SS-28 nur um 1 Prozent (Abb. 7). SS-14 scheint somit sowohl während Basal- als auch während stimulierter Sekretion eine größere MCR zu besitzen als SS-28. Nur in den niedrigen Dosierungen unter stimulierten Bedingungen weist SS-28 eine beinahe doppelt so hohe MCR auf wie SS-14.

Der starke Anstieg der MCR mit den niedrigen und mittleren Dosen der Peptide, der Abfall mit hohen Dosen und die relativ hohen MCR-Werte sind bei der Ratte bisher nicht beschrieben worden und sie stehen außerdem im Widerspruch zur MCR, welche durch systemische Infusion der Peptide gewonnen wird (siehe Absatz 3.6.2). Eine Ermittlung der HWZ während intraperitonealer Infusionsbedingungen konnte aufgrund der einmaligen Blutentnahme nach 4 h Sekretionsdauer nicht durchgeführt werden. Ebenso war es nicht möglich, den direkt von der HWZ abhängigen DV (siehe Absatz 2.7.6) zu berechnen.

3.6 Pharmakokinetisches Verhalten der beiden Peptide nach systemischer Infusion

Beide Peptide wurden in äquimolarer Konzentration (Referenzdosis: 3.1 nM/kg/h) entweder in die Vena jugularis externa (5 Tiere pro Peptid) oder in die Vena portae (5 Tiere pro Peptid) infundiert. Die aus der Dauer-Infusion resultierende SS-IR im Plasma für SS-14 bzw. SS-28 lag dabei um das 3 fache höher als jene, welche nach intraperitonealer Infusion gleicher Dosis erreicht wurde (Abb. 8, Abb. 7, Tab. 3). Weiterhin konnte, nach Berücksichtigung der unterschiedlichen Molekulargewichte, während der SS-Verabreichung in die Vena jugularis externa (VJE) im Plasma der Vena cava caudalis eine grob gleiche IR der beiden Peptide nachgewiesen werden. Während der SS-Zufuhr über die Vena portae (VP) dagegen war die Plasma-IR von SS-28 nur halb so hoch wie die von SS-14.

3.6.1 Plasma-Halbwertszeit

Die nach Peptidinfusion in die VJE bzw. VP aus der SS-IR im Plasma errechnete HWZ beträgt für SS-14 1.07 ± 0.11 (VJE) bzw. 1.04 ± 0.15 Minuten (VP; Tab. 4), für SS-28 1.51 ± 0.06 (VJE) bzw. 1.49 ± 0.09 Minuten (VP; Tab. 4). SS-28 weist somit bei Applikation in beiden Infusionsarten eine signifikant ($p < 0.05$) längere HWZ als SS-14 auf. Ähnliche Plasma-HWZ werden auch von anderen Untersuchern für die beiden Peptide dokumentiert (86, 104).

3.6.2 Metabolische Clearance-Rate

Die MCR von SS-14 liegt nach Infusion in die VJE bei 28.0 ± 3.9 und nach Infusion in die VP bei 27.6 ± 10.4 ml/min/Ratte (Tab. 4). Für SS-28 dagegen ergibt sich eine MCR von 40.0 ± 4.8 (VJE) bzw. 37.3 ± 5.5 ml/min/Ratte (VP; Tab. 4). Dieser Unterschied in der Clearance-Rate der beiden Peptide ist jedoch nicht signifikant.

3.6.3 Verteilungsraum der beiden Peptide

Für SS-14 wurde nach Infusion in die VJE ein DV von 43.9 ± 9.0 bzw. nach Infusion in die VP ein DV von 46.4 ± 21.9 ml/Ratte ermittelt. Beide Werte entsprechen ungefähr 18 % des mittleren Körpergewichts der im Versuch stehenden Tiere (Tab. 4). Der DV

von SS-28 ist um Faktor 1.65 größer und beträgt nach SS-Applikation in die VJE bzw. VP 75.0 ± 12.5 bzw. 79.0 ± 15.7 ml/Ratte (Tab. 4), entsprechend ca. 30 % des mittleren Körpergewichts.

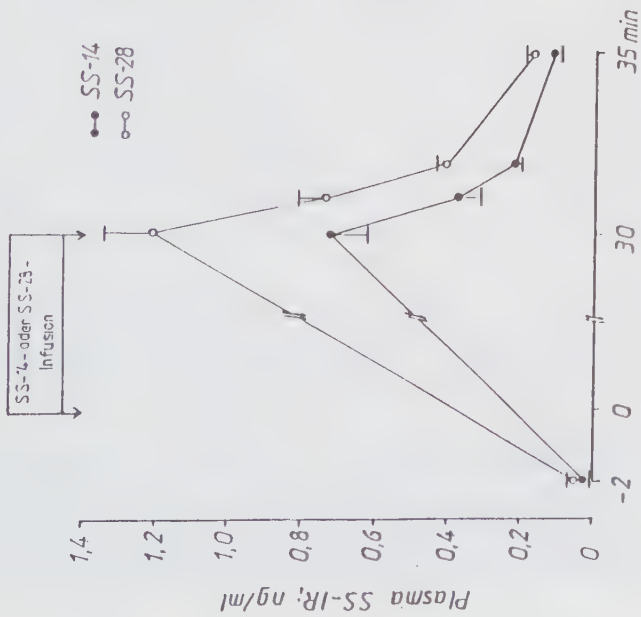
Tabelle 4: HWZ, MCR und DV nach Infusion von SS-14 bzw. SS-28 (3.1 nM/kg/h) in die VJE oder VP. Einzelheiten siehe Absatz Material und Methoden. Mittelwerte $\pm$ SEM. (): Anzahl Beobachtungen.

		Vena jugularis externa				Vena portae			
HWZ; min.	SS-14	1.07	$\pm$	0.11	(4)	1.04	$\pm$	0.15	(4)
	SS-28	1.51	$\pm$	0.06	(4)*	1.49	$\pm$	0.09	(4)*
MCR; ml/min/Ratte	SS-14	28.0	$\pm$	3.9	(4)	27.6	$\pm$	10.4	(4)
	SS-28	40.0	$\pm$	4.8	(4)	37.3	$\pm$	5.5	(4)
DV; ml/Ratte	SS-14	43.9	$\pm$	9.0	(4) ⁺	46.4	$\pm$	21.9	(4) ⁺
	SS-28	75.0	$\pm$	12.5	(4) ⁺⁺	79.0	$\pm$	15.7	(4) ⁺⁺

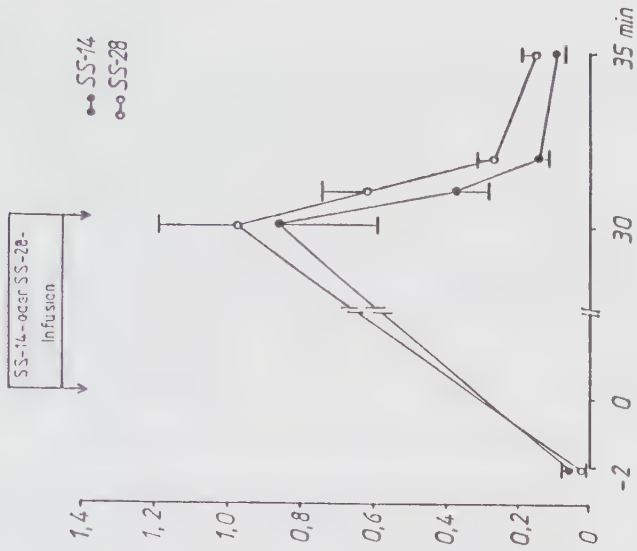
*: $p < 0.05$ vs SS-14

⁺: ungefähr 18 % bzw. ⁺⁺: ungefähr 30 % des mittleren Körpergewichts (250 g)

A. Infusion in die Vena jugularis externa



B. Infusion in die Vena portae



4. DISKUSSION

Die Ergebnisse der SS-14 Wirkung während basaler und stimulierter Sekretionsbedingungen am Magen bestätigen frühere Beobachtungen über einen Säure- und MBF-hemmenden Effekt, über eine Abnahme des Sekretions-Volumens und einen pH-Anstieg bei der Ratte (57, 62, 65, 100, 105). Eine Pepsin-Hemmung jedoch, wie sie für andere Spezies beschrieben wird (92, 93), ist hier nicht darstellbar, sondern Pepsin wird überraschenderweise stimuliert.

Der Einfluß von SS-28 auf die Magensekretion der Ratte kann hinsichtlich unabhängiger Untersuchungen nicht vergleichend beurteilt werden, da bis zum Zeitpunkt dieser Niederschrift solche noch nicht vorlagen. Einige Aspekte jedoch verdienen Kommentare.

4.1 Veränderungen bezüglich der Magensekretion

Durch SS-14 und SS-28 wird sowohl die basale wie auch die durch Pentagastrin stimulierte Säuresekretion der Ratte bei Vergleich der entsprechenden äquimolaren Peptid-Dosen grob gleich gehemmt. Obwohl die Dosen auf äquimolarer Basis berechnet wurden, war eine überlegene Hemmwirkung von SS-28 nicht erkennbar. Weiterhin konnte die Interaktion von Pentagastrin und SS-14 bzw. SS-28 auf Parietalzell-Rezeptorebene durch die angewandten Untersuchungstechniken aufgeklärt werden. SS-14 bzw. SS-28 und Pentagastrin konkurrieren um den gleichen Rezeptor an der Parietalzelle, wobei die Affinität der Peptide den entscheidenden Faktor für die Rezeptorbindung, und folglich auch für die Säure-Stimulation bzw. -Hemmung, darstellt.

Bei sehr hohen Pentagastrin- und relativ niedrigen SS-14- bzw. SS-28-Konzentrationen wird somit die Rezeptoraffinität der beiden Peptide erniedrigt, jene von Pentagastrin dagegen erhöht. Dadurch wird unter stimulierten Sekretionsverhältnissen nur ein relativ schwacher Hemmeffekt erzielt, verglichen mit dem unter basalen Verhältnissen, aber bei gleicher Dosis. Aus den in Absatz 3.4 aufgeführten Daten ist ferner ersichtlich, daß für eine grob gleiche Säurehemmung während stimulierter Bedingungen 5 mal so hohe halbmaximale molare Konzentrationen an SS-14 bzw. SS-28 benötigt werden

wie unter Ruhesekretion. Die daraus resultierende Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungskurve bedeutet, daß hier ein kompetitiver Hemmechanismus vorliegt.

Diese deutliche und grob gleiche Säurehemmung durch SS-14 und SS-28 an der Ratte steht im Gegensatz zum Fehlen einer dosisabhängigen Hemmung von Pepsin. Im Vergleich zur Regulation der Säuresekretion wurde jene von Pepsin bisher weniger untersucht, und diese ist deshalb in ihrem Regulationsmechanismus noch nicht vollständig aufgeklärt. Die vorliegende Studie zeigt, daß Säure und Pepsin unter pharmakologischen Dosen von SS-14 und SS-28, beides im Gastrointestinaltrakt vorkommende Peptide, sich gegenläufig entwickeln können (sog. Dissoziation).

Nach den bis jetzt vorliegenden Erkenntnissen ist diese Beobachtung hinsichtlich Somatostatin neu, obwohl bereits früher bei der Ratte unter SS-14 zwar Säure-, aber keine Pepsinhemmung gefunden wurde (100). Auch mit gastrointestinalen Hormonen [CCK (106), Caerulein (106), Sekretin (107)] wurden qualitativ ähnliche Befunde erzielt, und aus einer durch Glucagon oder GIP induzierten Pepsin-Hemmung (107), kann zumindest theoretisch eine Pepsin-Steigerung resultieren, wenn diese beiden Hormone metabolisch niedrig reguliert oder, wie in dieser Studie anzunehmen ist, von außen mittels Infusion von SS ausgeschaltet werden. Zur Zeit ist der Mechanismus welcher der Dissoziation von Säure und Pepsin unter Somatostatin zugrundeliegt, unbekannt. Eine Vermittlung dieser Wirkung über das System membranständige Adenylzyklase - intracelluläres cAMP wird jedoch vermutet, weil sowohl bei Steigerung der cAMP-Produktion als auch bei Verabreichung von cAMP-Analoga (z.B. Dibutyryl-cAMP) ähnliche Ergebnisse ermittelt werden (106, 108). Weitere Einblicke können vom Studium der Hemmung der sogenannten H^+ -Pumpe (H^+-K^+ -ATPase der Parietalzelle) durch Substanzen vom Typ des Omeprazol (109) erwartet werden, da dieses bemerkenswerterweise in vitro an der Maus ebenfalls eine Dissoziation von Pepsin und Säure bewirkt (108).

Eine weitere mögliche Erklärung für die pepsin-stimulierende Komponente von SS-14 bzw. SS-28 könnte das kürzlich beschriebene "Escape-Phänomen" und der darauf folgende Rebound-Effekt geben. Dieses Phänomen äußert sich dadurch, daß während basaler und

Pentagastrin-stimulierter Bedingungen nach 4 h SS-14-Dauerinfusion die Supprimierung der Magensekretion abnimmt, und nach 12 h, trotz kontinuierlicher Peptid-Infusion, wieder Vehikelwerte bzw. deutlich höhere Werte, bedingt durch den Rebound-Effekt, gemessen werden. Die Ursache für dieses Escape-Phänomen ist entweder in einer Entleerung der Speicher, die den wahren Inhibitor beinhalten, oder in einer Änderung der Konformation der Parietalzellrezeptoren unter Dauereinfluß von SS zu suchen (62). Aufgrund des starken Pepsinanstiegs, der im Gegensatz zu dem zeitlich relativ langsam auftretenden Escape-Phänomen und dem wesentlich schwächer ausgeprägten Rebound-Effekt steht, sind jedoch diese Möglichkeiten als Ursache für die eher überproportionale Pepsin-Stimulierung wenig wahrscheinlich.

Die Reduktion des MBF durch SS-14 bzw. SS-28 ist unter stimulierten Bedingungen eindrucksvoller als unter basalen. Dabei dominiert die durch SS-14 vermittelte Reduktion des MBF über jene von SS-28. Die Ermittlung des MBF wurde bei basaler wie auch bei Pentagastrin-stimulierter Sekretion nur bei jenen Proben vorgenommen, deren Sekret-pH ≤ 3.0 war, da die Aminopyrin-Clearance als Maß des MBF in höheren pH-Bereichen des Sekrets den Mukosablutfluß nicht mehr vollständig reflektiert. Die Brauchbarkeit des Markers ^{14}C -Aminopyrin bzw. dessen gastrische Clearance wurde wiederholt bestätigt (110, 111). Auch unter gehemmter Basalsekretion werden, steady state Bedingungen vorausgesetzt (d.h. Sekretionsperiode länger als 1 h), zuverlässige Daten geliefert (112).

Ob SS-28 lediglich ein Präkursor von SS-14 ist, oder ein selbstständiges Peptid mit qualitativ gleicher und längerer Wirkung, konnte im Rahmen dieser Untersuchung nicht geklärt werden. Als Ausdruck einer mehr eigenständigen Rolle von SS-28 könnte jedoch die geringere (basale Sekretion) bzw. fehlende (stimulierte Sekretion) Pepsin-Stimulierung und die längere Halbwertszeit interpretiert werden. Diese Beobachtungen bedürfen aber weiterer Untersuchungen.

4.2 Hormonelle Veränderungen

Bei einem Vergleich der Plasma SS-IR beider Peptide während basaler und stimulierter Sekretion wird unter stimulierten Bedingungen eine Verschiebung der Relation Peptid-Dosis zu Plasmawerten deutlich, d.h. die ermittelte IR zeigt nicht den Anstieg, der aufgrund der hohen intraperitoneal infundierten Dosen im Plasma zu erwarten wäre. Diese überraschende Beobachtung beruht möglicherweise auf einem erhöhten Bedarf von Somatostatin an den Parietalzellrezeptoren, um im Sinne eines kompetitiven Mechanismus Gastrin von den Rezeptoren zu verdrängen. Ferner könnte diese Beobachtung dafür sprechen, daß das intraperitoneal verabreichte SS-14 bzw. SS-28 in erster Linie parakrin wirkt und lediglich eine Fraktion der gesamten Dosis, z.B. nicht gebundenes Somatostatin, in das Gefäßsystem gelangt (113, 114).

Die von anderen Autoren beschriebene Supprimierung von Gastrin nach Zufuhr von exogenem SRIF fehlt in dieser Studie an der Ratte und steht damit im Widerspruch zu jenen Berichten (59, 64, 115). Aber auch neuere Untersuchungen bestätigen frühere Erkenntnisse, daß nicht immer eine Verminderung der basalen Gastrinspiegel unter exogenem Somatostatin-14 eintreten muß (62, 116, 117, 118). Die Ursache für diese diskrepanten Beobachtungen ist nicht bekannt. Das kürzlich entdeckte und bereits oben beschriebene "Escape-Phänomen" wäre eine mögliche Erklärung, da die Blutentnahme bei unserer Studie im kritischen Zeitraum (>4 h) erfolgte.

4.3 Pharmakokinetisches Verhalten

Bemerkenswert ist, daß nach systemischer Infusion von SS-14 bzw. SS-28 bei der Vergleichsdosis 3.1 nM/kg/h eine SS-IR im Plasma gemessen wurde, die etwa um das 3-fache höher war als die nach intraperitonealer Infusion der gleichen Dosis. Diese Diskrepanz basiert wahrscheinlich auf dem nach i.p.-Verabreichung eintretenden besonderen Wirkungsmodus (parakrin) von Somatostatin (113, 115) bzw. auf spezifischen Vorgängen bei der Resorption durch die peritonealen Membranen (119). Beide Hypothesen sind bis jetzt noch nicht ausreichend studiert. Trotz der niedrigen IR im Plasma wird aber auch durch die intraperitoneale Infusion eine

submaximale Säurehemmung erzielt, d.h. diese entspricht somit im Wirkungsgrad derjenigen, die durch systemische Infusion von anderen Untersuchern bei der Ratte für SS-14 ermittelt wurde (62). Diese Tatsache könnte ebenfalls als Hinweis für die bereits oben erwähnte parakrine Wirkung des Somatostatins gewertet werden. Während der SS-Zufuhr über die VP konnte eine grob gleiche IR der beiden Peptide, wie sie nach Infusion in die VJE ermittelt wurde, nicht demonstriert werden, da hier die IR von SS-28 um Faktor 2 niedriger war als die von SS-14. Die Ursache für diese Erniedrigung ist in der Metabolisierung von SS-28 durch die Leber zu suchen. Unter physiologischen Bedingungen wird nämlich das gesamte portal zugeführte SS-28 in der Leber verstoffwechselt, so daß die Lebervenen frei von diesem Peptid sind (89). SS-14 jedoch kann relativ unverändert die Leber passieren (88). Bei unphysiologisch hohen SS-28-Konzentrationen (hier 3.1 nM/kg/h) reicht nun die Metabolisierungskapazität der Leber nicht mehr aus, um das Octacosapeptid vollständig umzusetzen und es kommt somit zu einem partiellen Anstieg der SS-28-IR im Plasma. Ob nun SS-28 in der Leber zu SS-14 convertiert oder zu kleineren Fraktionen abgebaut wird, ist noch nicht ausreichend untersucht (89, 120).

Die HWZ von SS-28 ist bei beiden Infusionsarten (periphere oder portale Applikation) identisch und ungefähr 1.5 mal länger als die von SS-14. Dennoch besitzt das Peptid, verglichen mit SS-14, keine überlegene Wirkung auf die Magensekretion. Dies könnte auf eine lokale Präkursor-Rolle des Peptids im Gastrointestinaltrakt hindeuten (76, 79, 90). Ferner wird der Hormonstatus der beiden Peptide durch die relativ kurzen HWZ noch mehr in Frage gestellt. Die MCR von SS-14 bzw. SS-28 ist, bezogen auf die Vergleichsdosis 3.1 nM/kg/h, nach intraperitonealer Infusion um Faktor 3 - 4 höher als die nach systemischer Infusion. Diese rechnerische Differenz resultiert aus den unterschiedlichen Plasmaspiegeln am Versuchsende bzw. aus dem bereits oben angeführten besonderen Wirkungsmodus von Somatostatin und aus den spezifischen Vorgängen bei der Resorption aus der Bauchhöhle. Der DV von SS-14 beträgt bei peripherer und portaler Applikation ungefähr 18 % des mittleren Körpergewichts. Davon entfallen rechnerisch 3.7 % auf das Plasmavolumen (121) und die restlichen

14.3 % auf den interstitiellen bzw. transzellulären Raum. Dies bedeutet, daß sich SS-14 vermutlich nur im extrazellulären Raum (≈ 20 % des Körpergewichts) verteilt. SS-28 dagegen, dessen DV bei beiden Infusionsarten ca. 30 % des mittleren Körpergewichts einnimmt, scheint sich aufgrund der oben angeführten Daten zusätzlich im intrazellulären Raum aufzuhalten.

Zusammenfassend versucht diese Arbeit eine Übersicht über die sekretorischen und hormonellen Veränderungen unter dem Einfluß von SS-14 bzw. SS-28 während basaler und Pentagastrin-stimulierter Magensekretion bei der Ratte zu geben. Wichtige Elemente dieser sind: grob gleiche Säurehemmung durch SS-14 bzw. SS-28 sowohl unter basalen wie auch unter stimulierten Bedingungen, starke Pepsin-Stimulierung durch SS-14 und geringere bzw. fehlende Stimulierung durch SS-28, Reduktion des MBF, relativ niedrige Plasma SS-IR nach intraperitonealer Peptidinfusion, kurze HWZ für SS-14 und eine 1.5 mal längere HWZ für SS-28.

Daraus ergeben sich folgende Schlußfolgerungen:

1. Auch die freie Bauchhöhle ist bei der Ratte neben der Infusion in das Gefäßsystem als ein Applikationsort für SS-14 bzw. SS-28 geeignet.
2. Der Wirkungsmodus von intraperitonealem SS wird nicht vollständig verstanden (parakrin ?) und bedarf weiterer Untersuchungen.
3. Bei Peptidinfusion in das Gefäßsystem wird eine deutlich höhere SS-IR erzielt als bei intraperitonealer Applikation.
4. Das Octacosapeptid SS-28 hemmt die Magensäuresekretion der Ratte etwa so stark wie das Tetracosapeptid SS-14, aber eine Hemmwirkung auf Pepsin hat keines der beiden Peptide.
5. Die kurzen Halbwertszeiten beider Peptide sprechen gegen eine hormonelle Rolle, während ihre metabolische Clearance und ihr Verteilungsraum mit jenen von etablierten Peptidhormonen vergleichbar sind.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei Ratten mit drainierender Magenfistel wurde nach 4 h basaler bzw. Pentagastrin-stimulierter Sekretion unter Null-Stress-Bedingungen nach intraperitonealer SS-14 bzw. SS-28 Infusion (Kontrollen: NaCl-Lösung) die Magensekretion (Volumen, pH, Säure und Pepsin), die Mukosamikrozirkulation (MBF) sowie die Immunoreaktivität von SS und Gastrin bestimmt. Außerdem wurden nach systemischer Infusion der beiden Peptide in die Vena jugularis externa bzw. Vena portae die Halbwertszeit (HWZ), die metabolische Clearance-Rate (MCR) und der Verteilungsraum (DV) ermittelt. Eine submaximale Hemmung von basaler und Pentagastrin-stimulierter Magensäure bis auf ca. 10 - 12 Prozent der Ausgangswerte (Vehikel) war bei der Ratte durch intraperitoneale Verabreichung von SS-14 oder SS-28 möglich. Dabei wirkten beide Peptide, bezogen auf die mittleren halb-maximalen Dosen, grob gleich. Unter stimulierten Bedingungen jedoch wurden 5 mal so hohe halb-maximale molare Konzentrationen an SS-14 bzw. SS-28 benötigt, um die gleiche Hemmwirkung wie unter Ruhesekretion zu erzielen. Weder SS-14 noch SS-28 konnten bei der Ratte Pepsin eindeutig hemmen. Lediglich SS-14 senkte unter stimulierten Bedingungen im mittleren Dosisbereich die Pepsinkonzentration und -Sekretion. SS-28 dagegen zeigte in niederen und mittleren Dosen weder eine Pepsin-Stimulation noch eine -Hemmung. In höheren Dosen hatten beide Peptide eine stimulierende Wirkung auf Pepsin, wobei SS-14 stärker stimulierte als SS-28, insbesondere während Pentagastrin-stimulierter Sekretion. Der MBF wurde während Ruhe- und stimulierter Sekretion durch beide Peptide reduziert. Unter stimulierten Bedingungen dominierte vor allem die SS-14 Wirkung, wobei dieses die Mikrozirkulation bis auf ca. 39 Prozent, SS-28 hingegen nur bis auf ca. 48 Prozent der Ausgangswerte unter Vehikel verminderte. Die SS-IR von SS-14 bzw. SS-28 im Plasma nach intraperitonealer Infusion war um den Faktor 3 (Referenzdosis: 3.1 nM/kg/h) niedriger als die IR nach systemischer Infusion der gleichen Dosis. Außerdem wurde, bei Berücksichtigung der molaren Berechnungsbasis, für beide Peptide während Ruhesekretion eine nahezu identische

Plasma-IR gemessen, während stimulierter Sekretion jedoch eine unterschiedliche. Eine hemmende Wirkung auf Gastrin war nur nach SS-28-, aber nicht nach SS-14-Applikation erkennbar.

Während der Peptidinfusion in die VJE wurde unter Beachtung des unterschiedlichen Molekulargewichts eine annähernd gleich hohe, während Infusion in die VP eine unterschiedlich hohe Plasma-IR für die beiden Peptide ermittelt.

Die HWZ nach SS-Applikation in die VJE bzw. VP war für SS-14 bei beiden Infusionsarten nahezu gleich (1.07 bzw. 1.04 min), ebenso die gegenüber SS-14 signifikant längere HWZ ($p < 0.05$) von SS-28 (1.51 bzw. 1.49 min). Die MCR lag für SS-14 im Bereich von 28.0 (VJE) bzw. 27.5 ml/min/Ratte (VP), für SS-28 im Bereich von 40.0 (VJE) bzw. 37.3 ml/min/Ratte (VP). Der DV von SS-14 betrug bei beiden Infusionsarten ca. 18 %, der von SS-28 ca. 30 % des mittleren Körpergewichts.

Es wird gefolgert, daß 1.) bei der Ratte neben der systemischen Infusion auch die intraperitoneale Infusion von SS-14 bzw. SS-28 möglich ist, 2.) das Octacosapeptid SS-28 die Magensäuresekretion der Ratte im gleichen Maße wie das Tetradecapeptid SS-14 hemmt, Pepsin aber weniger stimuliert, und 3.) die nach systemischer Peptidverabreichung, verglichen mit intraperitonealer, höhere SS-IR im Plasma auf Unterschiede im Wirkungsmechanismus von SS, abhängig vom Ort seiner Applikation, schließen läßt.

SUMMARY

EFFECTS OF SOMATOSTATIN-14 AND SOMATOSTATIN-28 ON THE GASTRIC SECRETION OF THE RAT - INDICATIONS OF DIFFERENT PHARMACOKINETIC BEHAVIOUR DEPENDING ON THE SITE OF ADMINISTRATION

Gastric secretion (volume, pH, acid and pepsin), mucosal blood flow (MBF) as well as plasma SS-IR and serum gastrin were determined in rats with draining gastric fistula after 4 h basal and pentagastrin-stimulated secretion, respectively, under zero stress conditions using intraperitoneal (ip) infusion of either SS-14 or SS-28 (controls: 0.9 % sodium chloride solution). Additionally, the plasma half life (HL), metabolic clearance rate (MCR) and distribution volume (DV) of both peptides were investigated after their intravenous (iv) infusion into the external jugular vein (EJV) and hepatic-portal vein (HPV), respectively.

Submaximal inhibition of basal and pentagastrin-stimulated gastric acid secretion to approximately 10 - 12 per cent of the basal values (vehicle = 100 per cent) occurred in the rat after ip administration of SS-14 or SS-28, when related to the mean half maximal doses the effect of the two peptides were roughly identical under these conditions. Under stimulated conditions, however, five times higher half maximal molar concentrations of both peptides were required to achieve the same inhibition as under basal conditions.

Neither SS-14 nor SS-28 were able to inhibit pepsin secretion and its gastric juice concentration in the rat. Under stimulated conditions only the intermediate doses of SS-14 lowered the concentration and secretion of pepsin, whereas low and intermediate doses of SS-28 had no influence in this respect. Higher doses of the two peptides stimulated both, pepsin secretion and its gastric juice concentration. Here, the stimulatory effect of SS-14 was stronger than that of SS-28, particularly during pentagastrin-stimulated secretion.

The mucosal blood flow was reduced by both peptides during basal and stimulated secretion. Under stimulated conditions SS-14 lowered MBF to approximately 39 per cent of the basal values observed under vehicle infusion (= 100 per cent), whereas SS-28 lowered MBF to approximately 48 per cent.

Plasma SS-IR of both SS-14 and SS-28 was three times lower (reference dose: 3.1 nM/kg/h) after ip infusion than that found

after iv infusion of the same dose. Besides, on a molar base, approximately identical plasma immunoreactivities were measured for both peptides during basal secretion, and these were different, however, during stimulated secretion.

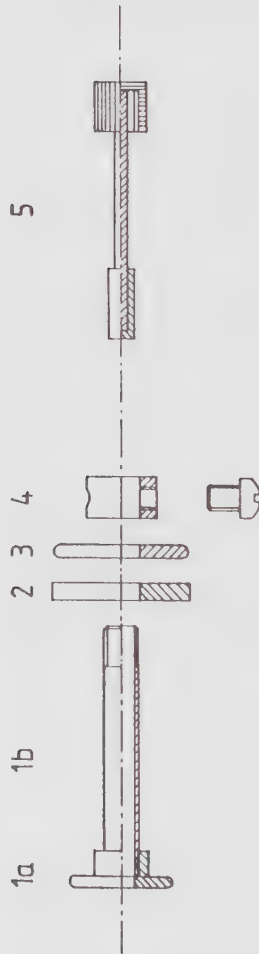
An inhibition of gastrin occurred only after administration of SS-28, but not after SS-14.

Approximately comparable molar plasma immunoreactivities of the two peptides were determined during infusion into the EJV, whereas during the infusion into the HPV plasma immunoreactivities were different.

The HL after administration of SS into the EJV and HPV, respectively, was approximately identical for SS-14 (1.07 resp. 1.04 min) as well as for SS-28 (1.51 resp. 1.49 min) during both modes of infusion. However, HL of SS-28 was significantly longer than that of SS-14 ($p \leq 0.05$). Mean MCR of SS-14 was 28.0 (EJV) and 27.6 ml/min/rat (HPV), mean MCR of SS-28 40.0 (EJV) and 37.3 ml/min/rat (HPV). The DV of SS-14 was approximately 18 % and that of SS-28 approximately 30 % of the mean body weight for both modes of infusion.

It is concluded that 1) in the rat both iv and ip infusion of SS-14 as well as SS-28 is possible, 2) the octacosapeptide SS-28 inhibits gastric acid secretion of the rat to the same degree as does the tetradecapeptide SS-14, but stimulates pepsin secretion and its gastric juice concentration less than SS-14, 3) the plasma SS-IR of the two peptides, which is higher after iv than after ip administration, may be explained by differences in the mode of action of SS. This may depend on the mode of administration.

6. ANHANG



Magenfistel,
Thomas-Type

Tabelle 1: Vergleichende Darstellung der Hemmeffekte auf die Magensekretion:
SS-28 versus SS-14

Autoren	Literaturver- zeichnis	Spezies	Säure		Pepsin		Gastrin	
			SS-14	SS-28	SS-14	SS-28	SS-14	SS-28
Konturek et al.	91	Hund	-	-	-	-	+++	+++
Esteve et al.	92	Hund	+++	+++	+	+	-	-
Hirst et al.	93	Katze	+++	+	+++	+	-	-
Vorliegende Arbeit		Ratte	+++	+++	-	-	-	+

Besonderheit: Bei den Wirkungen außerhalb des Gastrointestinaltraktes dominiert SS-28 über SS-14 (Supprimierung von Insulin und Growth Hormone).

Tabelle 2: Einzelwerte zu Abbildung 8. SS-IR (pg/ml) im Plasma der Vena cava caudalis nach Infusion von SS-14 bzw. SS-28 (3,1 nM/kg/h) in die Vena jugularis externa und Vena portae. Mittelwerte $\pm$ SEM. (): Anzahl Beobachtungen.

		Vena jugularis externa		Vena portae	
Basale SS-IR	SS-14	30 $\pm$	5 (5)	45 $\pm$	25 (5)
	SS-28	41 $\pm$	11 (5)	29 $\pm$	11 (5)
SS-IR, 30 Min. nach Infusionsstart;	SS-14	731 $\pm$	104 (5)	871 $\pm$	285 (5)
	SS-28	1223 $\pm$	140 (5)	983 $\pm$	213 (5)
SS-IR, 1 Min. nach Infusionsstop;	SS-14	383 $\pm$	60 (5)	380 $\pm$	102 (5)
	SS-28	750 $\pm$	72 (5)	623 $\pm$	123 (5)
SS-IR, 2 Min. nach Infusionsstop;	SS-14	229 $\pm$	17 (5)	147 $\pm$	30 (5)
	SS-28	412 $\pm$	28 (5)	274 $\pm$	48 (5)
SS-IR, 5 Min. nach Infusionsstop;	SS-14	117 $\pm$	16 (5)	100 $\pm$	19 (5)
	SS-28	169 $\pm$	23 (5)	154 $\pm$	44 (5)

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Krulich, L., Dhariwal, APS, McCann, SM: Stimulatory and inhibitory effects of purified hypothalamic extracts on growth hormone release from rat pituitary in vitro. *Endocrinology* 83: 783 - 790, 1968
2. Brazeau, P., Vale, W., Burgus, R. et alii: Hypothalamic peptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 179: 77 - 79, 1973
3. Brazeau, P., Vale, W., Rivier, J., Guillemin, R.: Acylated des-(ala¹-gly²)-somatostatin analogs: prolonged inhibition of growth hormone secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 60: 1202 - 1207, 1974
4. Coy, D.H., Coy, E.J., Arimura, A., Schally, A.V.: Solid phase synthesis of growth hormone-release inhibiting factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 54: 1267, 1973
5. Sarantakis, D., McKinley, W.A.: Total synthesis of hypothalamic "somatostatin". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 45: 234-238, 1973
6. Martin, J.B.: Inhibitory effect of somatostatin (SRIF) on the release of growth hormone (GH) induced in the rat by electrical stimulation. *Endocrinology* 94: 497 - 502, 1974
7. Rivier, J., Brazeau, P., Vale, W., Ling, N., Burgus, R., Gilon C., Yardley, J., Guillemin, R.: Synthèse totale par phase solide d'un tétradécapeptide avant les propriétés chimiques et biologiques de la somatostatine. *Cr. Acad. Sci. (Paris)*, 276: 2737 - 2740, 1973
8. Vale, W., Brazeau, P., Rivier, J., Grant, G., Burgus, R., Guillemin, R.: Inhibitory hypophysiotropic activities of hypothalamic somatostatin. *Fed. Proc.* 32: Abstract 2, 1973
9. Vale, W., Ling, N., Rivier, J., et alii: Anatomic and phylogenetic distribution of somatostatin. *Metabolism* 25: Suppl. 1 1491 - 1494, 1976

10. Jackson, LMD.: Phylogenetic distribution and function of the hypophysiotropic hormones of the hypothalamus. *Am Zoologist* 18: 385 - 399, 1978
11. Berelowitz, M., LeRoith, D., von Schenk, H., et alii: Somatostatin-like immunoactivity and biological activity is present in *Tetrahymena piriformis*, a ciliated protozoan. *Endocrinology* 110: 1939 - 1944, 1982
12. Krisch, B.: Hypothalamic and extrahypothalamic distribution of somatostatin-immunoreactive elements in the rat brain. *Cell Tissue Res.* 195: 499 - 513, 1978
13. Krisch, B.: Somatostatin-immunoreactive fiber projections into the brain stem and the spinal cord of the rat. *Cell Tissue Res.* 217: 531 - 552, 1981
14. Hökfelt, T., Johansson, O., Ljungdahl, A., Lundberg, J.M., Schultzberg, M.: Peptidergic neurones. *Nature* 284: 515 - 521, 1980
15. Hökfelt, T., Elfvin, L.G., Elde, R., Schultzberg, M., Goldstein, M., Luft, R.: Occurrence of somatostatin-like immuno-reactivity in some peripheral sympathetic noradrenergic neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 3587 - 3591, 1977
16. Lundberg, J.M. Hökfelt, T., Nilsson, G., et alii: Peptide neurons in the vagus, splanchnic and sciatic nerves. *Acta Physiol. Scand.* 104: 499 - 501, 1978
17. Miller, R.E.: Pancreatic neuroendocrinology: peripheral neural mechanisms in the regulation of the islets of Langerhans. *Endocr. Rev.* 2: 471 - 494, 1981
18. Patel, Y.C., Reichlin, S.: Somatostatin in hypothalamus, extra-hypothalamic brain, and peripheral tissues of the rat. *Endocrinology* 102: 523 - 530, 1978
19. Dubois, M.: Immunoreactive somatostatin is present in discrete cells of the endocrine pancreas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72: 1340 - 1343, 1975
20. Orci, L., Baetens, D., Dubois, M.P., Rufener, C.: Evidence for the D-cell of the pancreas secreting somatostatin. *Horm. Metab. Res.* 7: 400 - 402, 1975

21. Polak, J., Grimelius, L., Pearse, A.G.E., Bloom, S., Arimura, A.: Growth-hormone-release-inhibiting hormone in gastrointestinal and pancreatic D cells. *Lancet* 1: 1220 - 1222, 1975
22. Arnold, R., Lankisch, P.G.: Somatostatin and the gastrointestinal tract. *Clin. Gastroenterol.* 9: 733 - 753, 1980
23. Larsson, L.: Gastrointestinal cells producing endocrine, neurocrine and paracrine messengers. *Clin. Gastroenterol.* 9: 485 - 516, 1980
24. Shields, D., Warren, T.G., Green, R.F., Roth, S.E., Brenner, M.J.: The primary events in the biosynthesis and post-translational processing of different precursors to somatostatin. In: Rich, D.H., Gross, E. eds *Peptides: synthesis-structure-function: proceedings of the seventh American Peptide Symposium*. Rockford, III. Pierce Chemical Company 471 - 479, 1981
25. Goodman, R.H., David, C.A., Bernard, A.R.: Rat pre-prosomatostatin: structure and processing by microsomal membranes. *Journal of Biological Chemistry* 258: 5570 - 5573, 1983
26. Zingg, H.H., Patel, Y.C.: Biosynthesis of immunoreactive somatostatin by hypothalamic neurons in culture. *J. Clin. Invest.* 70: 1101 - 1109, 1982
27. Rasool, C.O., Schwartz, A.L., Bollinger, J.A., Reichlin, S., Bradley, W.G.: Immunoreactive somatostatin distribution and axoplasmatic transport in rat peripheral nerve. *Endocrinology* 108: 996 - 1001, 1981
28. Reichlin, S.: Somatostatin in the nervous system. In Bloom, F.E., Bird, S., Schmitt, F.O. eds. *Molecular genetic neuroscience*. New York: Raven Press: 359 - 372, 1982
29. Schonbrunn, A., Tashjian, A.H. Jr.: Characterization of functional receptors for somatostatin in rat pituitary cells in culture. *Journal of Biological Chemistry* 253: 6473 - 6483, 1978
30. Srikant, C.B., Patel, Y.C.: Somatostatin analogs: dissociation of brain receptor binding affinities and pituitary actions in the rat. *Endocrinology* 108: 341 - 343, 1981

31. Srikant, C.B., Patel, Y.C.: Somatostatin receptors: identification and characterization in rat brain membranes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 3930 - 3934, 1981
32. Mehler, P.S., Sussman, A.L., Maman, A., Leitner, J.W., Sussman, K.E.: Role of insulin secretagogues in the regulation of somatostatin binding by isolated rat islets. J. Clin. Invest. 66: 1334 - 1338, 1980
33. Pace, C.S., Tarvin, J.T.: Somatostatin: mechanism of action in pancreatic islet β -cells. Diabetes 30: 836 - 842, 1981
34. Carter, R.F., Bitar, K.N., Zfass, A.M., Makhoulouf, G.M.: Inhibition of VIP-stimulated intestinal secretion and cyclic AMP production by somatostatin in the rat. Gastroenterology 74: 726 - 730, 1978
35. Koch, B.D., Schonbrunn, A.: The somatostatin receptor is directly coupled to adenylate cyclase in GH_4C_1 pituitary cell membranes. Endocrinology 114: 1784 - 1790, 1984
36. Basabe, J.C., Cresto, J.C., Aparicio, N.: Studies on the mode of action of somatostatin on insulin secretion. Endocrinology 101: 1436 - 1443, 1977
37. Fujimoto, W.Y., Ensink, J.W.: Somatostatin inhibition of insulin and glucagon secretion in rat islet culture: reversal by ionophore A 23187. Endocrinology 98: 259 - 261, 1976
38. Boden, G., Sattler, M.A., Master, R.W., Martin, J.S.: Adrenergic control of somatostatin release. In: Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin, Athens: 12, 1981
39. Carlson, H.E., Mariz, I.K., Daughaday, W.H.: Thyrotropin-releasing hormone stimulation and somatostatin inhibition of growth hormone secretion from perfused rat adenohypophyses. Endocrinology 94: 1709 - 1713, 1974
40. Stachura, M.E.: Influence of synthetic somatostatin upon growth hormone release from perfused rat pituitaries. Endocrinology 99: 678 - 683, 1976

41. Althoff, P.-H., Handzel, R., Schöffling, K.: Influence of somatostatin (growth hormone release inhibiting hormone = GH-RIH) in acromegalic patients. *Acta endocrinologica (Kbh)*, Suppl. 193: Abstract 71, 1975
42. Mortimer, C.H., Tunbridge, W.M.G., Carr, D., Yeomans, L., Lind, T., Coy, D.H. et alii: Effects of growth-hormone release inhibiting hormone on circulating glucagon, insulin, and growth hormone in normal, diabetic, acromegalic, and hypopituitary patients. *Lancet I*: 697 - 701, 1974
43. Benker, G., Mortimer, C.H., Chait, A., Lowry, P.J., Besser, G.M., Coy, D.H., Kastin, A., Schally, A.V.: Heterogeneity of human growth hormone in plasma and urine: Influence of growth hormone release inhibiting hormone. *Acta endocrinologica (Kbh)*, Suppl. 193: Abstract 72, 1975
44. Vale, W., Rivier, C., Brazeau, P., Guillemin, R.: Effects of somatostatin on the secretion of thyrotropin and prolactin. *Endocrinology* 95: 968 - 977, 1974
45. Chihara, K., Arimura, A., Chihara, M., Schally, A.V.: Studies on the mechanism of growth hormone and thyrotropin responses to somatostatin antiserum in anesthetized rats. *Endocrinology* 103: 1916 - 1923, 1978
46. Weeke, J., Hansen, A.P., Lundaek, K.: Inhibition by somatostatin of basal levels of serum thyrotropin in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41: 168 - 171, 1975
47. Arimura, A., Schally, A.V.: Increase in basal and thyrotropin-releasing hormone (TRH)-stimulated secretion of thyrotropin (TSH) by passive immunization with antiserum to somatostatin in rats. *Endocrinology* 98: 1069 - 1072, 1976
48. Besser, G.M., Mortimer, C.H., McNeilly, A.S., Thorner, M. O., Batistoni, G.A., Bloom, S.R., Kastrup, K.W. et alii: Long-term infusion of growth hormone release inhibiting hormone in acromegaly: effects on pituitary and pancreatic hormones. *Brit. Med. J.* 4: 622 - 627, 1974

49. Höffken, B., Lucke, C.: Effect of somatostatin on pituitary hormone secretion. *Acta endocrinologica (Kbh)*, Suppl. 193, Abstract 70, 1975
50. Leblanc, H., Anderson, J.R., Siler, T.M., Rigg, L.A., Yen, S.S.C.: Characterization of the biological activities of somatostatin in humans. *Am. Endocrine Soc.*, 56th Meeting, Atlanta 203, 1974
51. Hall, R., Besser, G.M., Schally, A.V., Coy, D.H., Evered, D., Goldie, D.J., Kastin, A.J., McNeilly, A.S. et alii: Action of growth-hormone-release inhibitory hormone in healthy men and in acromegaly. *Lancet* II: 581 - 584, 1973
52. Tyrell, J.B., Lorenzi, M., Gerich, J.E., Forsham, P.H.: Inhibition by somatostatin of ACTH secretion in Nelson's syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 40: 1125 - 1127, 1975
53. McCann, S.M., Krulich, L., Negro-Vilar, A., Ojeda, S.R., Vijayan, E.: Regulation and function of panhibin (somatostatin). *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 22: 131 - 143, 1980
54. Reichlin, S.: Somatostatin. In: Krieger, D.T., Brownstein, M., Martin, J.B., eds. *Brain peptides*. New York: John Wiley, 712 - 752, 1982
55. Patel, Y.C., Amherdt, M., Orci, L.: Quantitative electron microscopic autoradiography of insulin, glucagon, and somatostatin binding sites on islets. *Science* 217: 1155 - 1156, 1982
56. Mandarino, L., Stenner, D., Blanchard, W., et alii: Selective effects of somatostatin -14, -25, and -28 on in vitro insulin and glucagon secretion. *Nature* 291: 76 -77, 1981
57. Schusdziarra, V.: Somatostatin - a regulatory modulator connecting nutrient entry and metabolism. *Horm. Metab. Res.* 12: 563 - 577, 1980
58. Uvnäs-Wallensten, K.: Luminal secretion of gut peptides. *Clin. Gastroenterol.* 9: 545 - 553, 1980

59. Barros, D'Sa., A.A.J., Bloom, S.R., Baron, J.H.: Inhibition by somatostatin (growth-hormone release-inhibiting hormone, GH-RIH) of gastric acid and pepsin and G-cell release of gastrin. *Gut* 19: 315-320, 1978
60. Barros, D'SA., A.A.J., Bloom, S.R., Baron, J.H.: Direct inhibition of gastric acid by growth-hormone release-inhibiting hormone in dogs. *Lancet* I: 886 - 887, 1975
61. Gomez-Pan, A., Reed, J.D., Albinus, M., Shaw, B., Hall, R., Besser, G.M., Coy, D.H. et alii: Direct inhibition of gastric acid and pepsin secretion by growth-hormone release-inhibiting hormone in cats. *Lancet* I: 888 - 890, 1975
62. Ekelund, M., Ekman, R., Håkanson, R., Sundler, F.: Continuous infusion of somatostatin evokes escape of gastric acid inhibition in the rat. *Gastroenterology* 86: 861 - 865, 1984
63. Skamene, A., Patel, Y.C.: Infusion of graded concentrations of somatostatin in man: pharmacokinetics and differential inhibitory effects on pituitary and islet hormones. *Clin. Endocrinol.* 20: 555 - 564, 1984
64. Konturek, S.J., Tasler, J., Cieszkowski, M., Coy, D.H., Schally, A.V.: Effect of growth hormone release-inhibiting hormone on gastric secretion, mucosal blood flow, and serum gastrin. *Gastroenterology* 70: 737 - 741, 1976
65. Creutzfeldt, W., Arnold, R.: Somatostatin and the stomach: exocrine and endocrine aspects. *Metabolism* 27, Suppl. 1: 1309 - 1315, 1978
66. Phillip, J., Domschke, S., Domschke, W., Urbach, H.-J., Reiss, M., Demling, L.: Inhibition by somatostatin of gastrin release and gastric acid responses to meals and to pentagastrin in man. *Scand. J. Gastroent.* 12: 261 - 265, 1977
67. Konturek, S.J., Radecki, T., Pucher, A., Coy, D.H., Schally, A.V.: Effect of somatostatin on gastrointestinal secretions and peptic ulcer production in cats. *Scand. J. Gastroent.* 12: 379 - 383, 1977

68. Gerich, J.E.: Somatostatin. In: Brownlee M., ed. Handbook of diabetes mellitus. Vol. 1. New York: Garland STPM Press, 297 - 354, 1981
69. Pradayrol, L., Chayvialle, J.A., Carlquist, M. et alii: Isolation of a porcine intestinal peptide with c-terminal somatostatin. Biochem. Biophys. Res. Commun. 83: 701-708, 1978
70. Pradayrol, L., Jörnvall, H., Mutt, V., Ribet, A.: N-Terminally extended somatostatin: the primary structure of somatostatin-28. FEBS Lett. 109: 55 - 58, 1980
71. Schally, A.V., Huang, W.Y., Chang, R.C.C., Arimura, A., Redding, T.W., Millar, R.P. et alii: Isolation and structure of pro-somatostatin: a putative somatostatin precursor from pig hypothalamus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4489 - 4493, 1980
72. Esch, F., Böhlen, P., Ling, N., Benoit, R., Brazeau, P., Guillemin, R.: Primary structure of ovine hypothalamic somatostatin-28 and somatostatin-25. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 6827 - 6831, 1980
73. Spiess, J., Villareal, J., Vale, W.: Isolation and structure analysis of a somatostatin-like polypeptide from ovine hypothalamus. Biochem. 20: 1982 - 1988, 1981
74. Böhlen, P., Brazeau, P., Esch, F., Ling, N., Guillemin, R.: Isolation and chemical characterization of somatostatin-28 from rat hypothalamus. Regulatory Peptides 2: 359 - 369, 1981
75. Pradayrol, L., Chayvialle, J.A., Descos, F., Fagot-Revurat, P., Galmiche, J.P.: Multiple-forms of somatostatin-like activity in a human pancreatic tumour and its hepatic metastasis: purification and characterization of s 28 and s 14. In: Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin, Athens: 137, 1981
76. Benoit, R. Böhlen, P., Ling, N., Briskin, A., Esch, F., Brazeau, P., Ying, S.Y., Guillemin, R.: Presence of somatostatin-28(1-12) in hypothalamus and pancreas. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 917 - 921, 1982

77. Benoit, R., Ling, N., Bakhit, C., Morrison, J.H., Alford, B., Guillemin, R.: Somatostatin-28(1-12)-like immunoreactivity in the rat. *Endocrinology* 111: 2149 - 2151, 1982
78. Michie, J., Millar, R., Schally, A.: Enzymatic conversion of somatostatin-28 to somatostatin-14 by subcellular fractions of sheep hypothalamus. In: *Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin*, Athens: 108, 1981
79. Zingg, H.H., Patel, Y.C.: Processing of synthetic somatostatin-28 and a related endogenous rat hypothalamic somatostatin-like molecule by hypothalamic enzymes. *Life Sciences* 30: 525 - 533, 1982
80. Patel, Y.C.: A high molecular weight form of somatostatin-28(1-12)-like immunoreactive substance without somatostatin-14 immunoreactivity in the rat pancreas. *J. Clin. Invest.* 72: 2137 - 2143, 1983
81. Bakhit, C., Benoit, R., Bloom, F.E.: Release of somatostatin-28(1-12) from rat hypothalamus in vitro. *Nature* 301: 524-526, 1983
82. Srikant, C.B., Patel, Y.C.: Binding of somatostatin-28 and somatostatin-25 to SRIF receptors: increased affinity for pituitary but not for cns receptors in the rat. In: *Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin*, Athens: 164, 1981
83. Gespach, C., Hui Bon Hoa, D., Rosselin, G.: Regulation by vasoactive intestinal peptide, histamine, somatostatin-14 and -28 of cyclic adenosine monophosphate levels in gastric glands isolated from the guinea pig fundus or antrum. *Endocrinology* 112: 1597 - 1606, 1983
84. Tannenbaum, G.S., Wanamaker, L., Gurd, W., Ling, N., Brazeau, P.: Dynamic time course studies of the biological actions of somatostatin-28 and somatostatin-25. In: *Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin*, Athens: 172, 1981
85. Susini, C., Esteve, J.P., Vaysse, L., Pradayrol, L., Ribet, A.: Somatostatin-28: effects on exocrine pancreatic secretion in conscious dogs. *Gastroenterology* 79: 720 - 724, 1980

86. Patel, Y.C., Wheatley, T.: In vivo and in vitro plasma disappearance and metabolism of somatostatin-28 and SRIF in the rat. In: Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin, Athens: 126, 1981
87. Böhlen, P., Benoit, R., Esch, F., Ling, N., Brazeau, P., Guillemin, R.: Isolation and characterization of somatostatin-related peptides from rat tissue. In: Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin, Athens: 13, 1981
88. Millar, R., Wegener, I., Michie, J., Kewley, C.: Secretion and metabolism of somatostatin-28 in the hypothalamus and gastrointestinal tract. In: Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin, Athens: 109, 1981
89. Millar, R., Wegener, I., van Hoorn-Hickman, R.: Somatostatin-28 and somatostatin-14 in the circulation of the rat and pig. In: Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin, Athens: 110, 1981
90. Konturek, S.J., Tasler, J., Jaworek, J., Pawlik, W., Coy, H.D., Schally, A.V.: Comparison of gastric and pancreatic secretory, circulatory and metabolic effects of prosomatostatin (pro-ss) and somatostatin (ss) in dogs. In Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin, Athens: 85, 1981
91. Konturek, S.J., Tasler, J., Jaworek, J., Pawlik, W., Walus, K.M., Schusdziarra, V., Meyers, C.A., Coy, H.D., Schally, A.V.: Gastrointestinal secretory, motor, circulatory, and metabolic effects of prosomatostatin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 1967 - 1971, 1981
92. Estéve, J.P., Susini, C., Vaysse, N., Gineston, J.L., Pradayrol, L., Wunsch, W., Ribet, A.: Action de la somatostatine sur les sécrétions gastriques et pancréatiques du chien conscient: comparaison entre somatostatine 14, somatostatine 28 naturelle et somatostatine 28 synthétique. Gastroent. Clin. Biol. 6: 576 - 580, 1982

93. Hirst, B.H., Conlon, J.A., Coy, H.D., Holland, J., Shaw, B.: Comparison of the gastric exocrine inhibitory activities and plasma kinetics of somatostatin-28 and somatostatin-14 in cats. *Regulatory Peptides* 4: 227 - 237, 1982
94. Engelhardt, W., Schwille, P.O.: Development of a sensitive somatostatin radioimmunoassay and its application to plasma of stressed and non-stressed rats. *Horm. Metab. Res.* 13: 318 - 323, 1981
95. Stadil, F., Rehfeld, J.F.: Determination of gastrin in serum. An evaluation of the reliability of a radioimmunoassay. *Scand. J. Gastroent.* 80: 101 - 102, 1973
96. Tague, L.L., Jacobson, E.D.: Evaluation of ^{14}C -aminopyrine clearance for determination of gastric mucosal blood flow. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 151: 707 - 710, 1976
97. Rick, W., Fritsch, P.: Pepsin. In: *Methoden der enzymatischen Analyse*; H. U. Bergmeyer (ed). Weinheim Chemie, 962 - 968, 1970
98. Mitchell, S.J., Modlin, I.M., D'Sa Barros, A.A.J., Bloom, S.R.: The pharmacokinetics of VIP in dog and pig. *Experientia* 38: 1091 - 1093, 1982
99. Sachs, L.: *Statistische Auswertungsmethoden*. Berlin, Heidelberg, New York; Springer, 3. Auflage, 1972
100. Schwille, P.O., Putz, F., Thun, R., Schellerer, W., Draxler, G. Lang, G.: Anti-stress ulcer and anti-secretory effect of somatostatin in rats - failure to suppress serum gastrin. *Acta Hepato-Gastroenterologica* 24: 259 - 265, 1977
101. Lockenvitz, E., Schwille, P.O., Hanisch, E., Engelhardt, W.: Influence of exogenous glucagon on gastric acid secretion, mucosal blood flow, and stress ulcers in the rat: Dose response results under non-stress conditions and immobilization stress. *Res. Exp. Med. (Berl)* 182: 245 - 253, 1983
102. Welf, U., Schwille, P.O., Engelhardt, W.: Gastric secretion, mucosal erosions and porto-systemic gastrin gradients as influenced by different degrees of stress in the rat. *Res. Exp. Med. (Berl)* 179: 229 - 237, 1981

103. Engelhardt, W., Schnek, O., Schwille, P.O.: Influence of exogenous and endogenous somatostatin on small intestinal calcium absorption (CaA) in the parathyroidectomized rat. *Acta endocrinologica* 102 (Suppl. 253): 107, 1983
104. McMartin, C., Peters, G.E.: The distribution and metabolism of (³H)-somatostatin in the rat following i.v. administration. In: Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin, Athens: 106, 1981
105. Leung, F.W., Guth, P.H., Wadsworth, V.A.M.C., Cure: The effect of somatostatin on gastric mucosal blood flow in the rat. *Clin. Res.* 32: 76 A, 1984
106. Kasbekar, D.K., Jensen, R.T., Gardner, J.D.: Pepsinogen secretion from dispersed glands from rabbit stomach. *Am. J. Physiol.* 244: G. 392 - 396, 1983
107. Sanders, D.J., Hirst, B.H., Marr, A.P., Arilla, E., Gilroy, A.S., Shaw, B., Zahedi-Asl, S.: Glucagon and GIP inhibit and secretin, VIP and PHI stimulate pepsin secretion in the cat. *Dig. Dis. Sci.* 29: 73, 1984
108. Fimmel, C.J., Blum, A.L.: Pepsin secretion - Neurohumoral regulation and drug effects. *Scand. J. Gastroent.* 19 (Suppl. 101): 39 - 46, 1984
109. Fellenius, E., Berglinde, T., Sachs, G., Olbe, L., Erlander, B., Sjöstrand, S.E., Wallmark, B.: Substituted benzimidazoles inhibit gastric acid secretion by blocking (H^+ + K^+)ATPase. *Nature* 290: 159 - 161, 1981
110. Moody, F.G., McGreevy, J., Zalevsky, C., Cheung, L.Y., Simons, M.: Cytoprotective effect of mucosal blood flow in experimental erosive gastritis. *Acta physiol. scand. Supps.* 35 - 43, 1977
111. Jacobson, E.D., Linford, R.H., Grossman, M.I.: Gastric secretion in relation to mucosal blood flow studied by a clearance technic. *J. Clin. Invest.* 45: 1 - 13, 1966
112. Hemmer, J., Schwille, P.O., Schellerer, W., Hofmann, W.: Effects of cimetidine upon gastric secretion and mucosal blood flow in the rat stressed by restraint. *Res. Exp. Med.* 176: 207 - 217, 1980

113. Larsson, L.I., Goltermann, N., deMagistris, L., Rehfeld, J. F., Schwartz, T.W.: Somatostatin cell processes as pathways for paracrine secretion. *Science* 205: 1393, 1979
114. McIntosh, C., Arnold, R., Bothe, E., Becker, H., Kobberling, J., Creutzfeld, W.: Gastrointestinal somatostatin: extraction and radioassay in different species. *Gut* 19: 655, 1979
115. Koop, H., Arnold, R.: Somatostatin-Wirkung am Magen: endokriner oder parakriner Effekt? *Z. Gastroenterologie*: S. 479 Nr. 176, 1984
116. Kwok, Y.N., McIntosh, C.H.S., Pederson, R.A., Brown, J.C.: The relationship between gastrin and somatostatin release from the perfused rat stomach. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 62: Axviii, 1984
117. Hayes, J.R., Johnson, D.G., Koerker, D., Williams, R.H.: Inhibition of gastrin release by somatostatin in vitro. *Endocrinology* 96: 1374-1376, 1975
118. Johnson, R.: Effects of somatostatin and acid on inhibition of gastrin release in newborn rats. *Endocrinology* 114: 743 - 746, 1984
119. Maher, J.F.: Characteristics of peritoneal transport: physiological and clinical implications. *Mineral Electrolyte Metab.* 5: 201 - 211, 1981
120. Webb, S., Kravetz, D., Wass, J.A.H., Bosch, J., Evans, J., et alii: Hepatic metabolism of somatostatin in cirrhotics with portocaval shunts. In: *Serono abstract book: 2nd International Symposium on Somatostatin, Athens: 196, 1981*
121. Baker, H.J., Lindsey, J.R., Weisbroth, S.H.: The laboratory rat. Volume I. Academic Press, New York: 108, 1979

Herrn Professor Dr. Dr. P.O. Schwille danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und für seine Unterstützung bei der Durchführung der mir gestellten Aufgabe.

Gleichzeitig möchte ich allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Experimentelle Chirurgie und des Hormonlabors für ihre freundliche Hilfestellung danken.

Herrn Professor Dr. U. Lösch danke ich für die Bereitschaft, die Arbeit über sein Institut einzureichen, und für die wohlwollende Beratung bei der Durchsicht der Arbeit.

LEBENS LAUF

01. 12. 1953 Geboren in Oettingen/Bay. als Sohn des Franz Seefried und seiner Frau Therese Seefried
- 1960 - 1964 Besuch der Volksschule in Oettingen/Bay.
- 1964 - 1973 Besuch des Albrecht-Ernst-Gymnasiums in Oettingen/Bay.
07. 1973 -
11. 1973 Freiwilliges Krankenpflegepraktikum im Kreiskrankenhaus Oettingen/Bay.
- 1974 - 1975 Grundwehrdienst bei einer Bundeswehreinheit in Ulm
- 1975 - 1976 Studium der Chemie an der Friedrich-Alexander Universität Erlangen - Nürnberg
- 1976 - 1977 Krankenpflegehelfer im Klinikum Nürnberg
- 1977 - 1983 Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
20. 01. 1983 Staatsexamen
22. 02. 1983 Approbation als Tierarzt
05. 1983 Beginn des Humanmedizinstudiums an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg
05. 1983 -
10. 1984 In Zusammenarbeit mit der Abteilung Experimentelle Chirurgie der Chirurgischen Klinik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg Anfertigung dieser Dissertation
28. 08. 1984 Ärztliche Vorprüfung
11. 01. 1985 Heirat mit Frau Annette Seefried, geb. Krüger



